

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

ESTUDIO BACTERIOLOGICO Y ESTADISTICO DE  
PORTADORES SANOS DE Staphylococcus aureus  
EN LA FESC - CI

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P R E S E N T A N

MARIA DE LOURDES HERNANDEZ MEDINA

MARIA EUGENIA HERNANDEZ MEDINA

DIRECTOR:

M. V. Z. GERARDO CRUZ JIMENEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1986



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

I. OBJETIVOS .....	1
II. INTRODUCCION .....	2
1. Antecedentes Históricos .....	2
2. Características Generales de Identificación .....	3
3. Habitat .....	4
.....	5
4. Cultivo .....	5
5. Componentes Celulares y Características Antigénicas .....	7
A. Cápsula .....	7
B. Proteína A .....	7
.....	8
C. Peptidoglucanos .....	9
D. Acido Teicoico .....	9
6. Mecanismos de Patogenicidad .....	9
A. Enzimas .....	10
a) Coagulasa .....	10
b) Hialuronidasa .....	11
c) Fosfatasa .....	12
d) Nucleasa .....	12
e) Proteasa .....	12
f) Lipasa .....	13
B. Toxinas .....	13
a) Hemolisinas .....	13



l) Rojo de Metilo - Voges Proskauer .....	35
m) Sensibilidad a la Optoquina .....	36
n) Sensibilidad a la Bacitracina .....	37
o) Fermentación Anaerobia de Manitol .....	38
p) Coagulasa .....	39
C. Diferenciación de <u>Streptococcus</u> .....	41
D. Diferenciación de los géneros: <u>Micrococcus</u> y -- <u>Staphylococcus</u> .....	41
E. Diferenciación del <u>Staphylococcus aureus</u> de -- otras especies de <u>Staphylococcus</u> .....	41
F. Identificación de las Bacterias aisladas en -- agar EMB .....	45
G. Identificación de <u>Corynebacterium</u> .....	45
.....	46
3. Sensibilidad a Antibióticos .....	46
IV. RESULTADOS .....	51
V. DISCUSION .....	70
VI. CONCLUSIONES .....	75
VII. BIBLIOGRAFIA .....	77

## I. OBJETIVOS.

1. Determinar el porcentaje de portadores de Staphylococcus aureus en una población aparentemente sana perteneciente a la FESC-C1 a partir de exudados faríngeos.

2. Comparar estadísticamente la frecuencia de portadores sanos de Staphylococcus aureus en los tres grupos que constituyen la comunidad universitaria de la FESC-C1 (personal académico, personal administrativo y estudiantes).

3. Determinar qué bacterias son más comúnmente aisladas a partir de exudados faríngeos.

4. Realizar prueba de susceptibilidad a antibióticos a las cepas de Staphylococcus aureus aisladas.

## II. INTRODUCCION

### 1. Antecedentes Históricos

Robert Koch, en 1878, fue el primero en describir el Staphylococcus en un pus humano. Dos años después Pasteur -- cultivaba este germen en medio líquido, y al año siguiente -- Ogston mostró su frecuencia en abscesos agudos y crónicos, -- así como su patogenicidad para el ratón y el cobayo. En 1884 Rosenbach realizó un estudio minucioso de estos microorganismos, obteniéndolos en cultivo puro, y adoptando el nombre genérico de Staphylococcus, describió dos especies - Staphylococcus (pyogenes) aureus y Staphylococcus (pyogenes) albus<sup>1</sup> - los cuales son actualmente clasificados en un género (Staphylococcus) de la familia Micrococcaceae. Passet, en 1885, adicionó otra especie - Staphylococcus (pyogenes) citreus<sup>2</sup> -. En 1930, Julianelle introdujo la primera clasificación de los - Staphylococcus basada en diferencias de estructura antigénica, y en 1942, Fisk desarrolló un método de tipificación por bacteriófagos (3, 10, 36, 42).

1. Esta especie se designa actualmente como Staphylococcus epidermidis (10).
2. La especie denominada citreus por presentar colonias de color amarillo limón, se engloba actualmente en la especie epidermidis (10).

## 2. Características Generales de Identificación

Los Staphylococcus son organismos inmóviles que no forman esporas, su diámetro varía entre 0.5 y 1.2 micras. Todos ellos son Gram positivos, pero en los cultivos algunos gérmenes pueden volverse individualmente Gram negativos, --- principalmente en cultivos viejos. Microscópicamente se observan células esféricas agrupadas en racimos, característica que resulta de las divisiones irregulares en dos planos perpendiculares uno a otro, esta característica es más evidente en cultivos en medios sólidos; en medios líquidos se pueden observar racimos más pequeños, células individuales o cadenas cortas. A pesar de que en este último caso, pueden ser confundidos con los Streptococcus, su diferenciación no suele ser difícil, ya que los Staphylococcus raramente forman cadenas de más de cuatro elementos, mientras que las cadenas de Streptococcus son habitualmente mucho más largas. En medios sólidos con carne digerida, los Staphylococcus producen colonias circulares prominentes y brillantes, de 1 a 2 milímetros de diámetro y bastante más opacas que las de los Streptococcus (3, 10, 21).

Todas las especies de Staphylococcus producen un pigmento insoluble en agua que varía de un blanco porcelana a un amarillo dorado (3). Los Staphylococcus se desarrollan -- más rápidamente a 37°C, pero forman mejor su pigmento a tem-



peratura ambiente (20°C). Muchas colonias producen su pigmento solamente mediante incubación prolongada por 3 o 5 días a 20°C (3, 21).

Las dos especies, Staphylococcus aureus y Staphylococcus epidermidis, pueden ser reconocidas, en muchos casos, por el color de sus colonias: Staphylococcus aureus colonias amarillo dorado; Staphylococcus epidermidis colonias blanco porcelana (10). Sin embargo, este método de identificación no siempre es válido, ya que algunas colonias de Staphylococcus aureus en aislamiento primario producen pigmento blanco (3).

Las cepas patógenas de Staphylococcus elaboran una enzima que recibe el nombre de coagulasa y que produce la coagulación del plasma. Como algunas cepas coagulasa positivas son incapaces de producir pigmento, se tiende a clasificar como aureus a todas las cepas que producen la enzima. Staphylococcus epidermidis no produce la coagulasa, y en la especie humana, su capacidad patogénica es escasa (10).

Las pruebas más confiables para la diferenciación de estas dos especies de Staphylococcus son: morfología colonial, producción de coagulasa y fermentación de manitol anaerobio, que son las pruebas usadas rutinariamente en el laboratorio clínico (3, 36).

### 3. Habitat

Los Staphylococcus se encuentran en la superficie -- corporal de muchas especies de mamíferos y aves, constituyendo su hábitat natural. También se les puede encontrar en el aire, polvo, ambientes hospitalarios, en leche, alimentos contaminados y en aguas residuales (42).

Los Staphylococcus figuran entre las bacterias no es pobladas más resistentes ya que pueden sobrevivir a muchas condiciones ambientales desfavorables en su camino de un -- huésped a otro: son muy resistentes a la luz, temperaturas extremas y desecación, de aquí que la infección pueda ser -- transmitida por los microorganismos que se encuentran en el polvo. Estos gérmenes sobreviven en el pus desecado y en el esputo de días a semanas y puede resistir calor húmedo hasta 60°C durante 30 minutos. Los Staphylococcus son resistentes a desinfectantes tales como el fenol y el cloruro de -- mercurio (31).

#### 4. Cultivo

El Staphylococcus es una bacteria frecuentemente asociada al hombre y su presencia es tan común, que es necesario contar con métodos de laboratorio que permitan aislarlo bajo muy diversas circunstancias, de tal manera que se pueda establecer su posible relación con trastornos patológicos, o bien con problemas de contaminación de materiales -- que se destinan al consumo humano. En diferentes productos

obtenidos de pacientes, se puede aislar a los Staphylococcus, ya sea como gérmenes directamente responsables del proceso patológico, o bien como asociados oportunistas. Se les puede cultivar a partir de pus, exudados, orina, sangre, materias fecales, materiales de biopsia, líquido cefalorraquídeo, etc. (28).

El Staphylococcus es un microorganismo poco exigente de fácil desarrollo (28). Los medios simples propician el crecimiento de los Staphylococcus en una amplia gama de temperatura (15 a 40°C) y de pH (4.8 a 9.4). Los Staphylococcus son anaerobios facultativos. En algunos cultivos aerobios, el peróxido de hidrógeno no se acumula, porque los microorganismos producen catalasa (10, 31).

En los medios no selectivos sus colonias son grandes lisas y por lo general opacas, circulares y enteras, a veces pueden presentarse bordes ligeramente ondulados (28).

En agar sangre las colonias tienen las características descritas en el párrafo anterior, pero son más grandes y pueden además presentar hemólisis o no. La mayoría de las cepas virulentas son hemolíticas, fermentan el manitol y resisten altas concentraciones de cloruro de sodio. Las cepas típicas de Staphylococcus epidermidis no fermentan el manitol (28).

Los medios de cultivo recomendados para aislar Staphylococcus son: agar de sal y manitol, agar para Staphylococcus No. 110, agar de Vogel Johnson, agar Baird Parker, agar san-

gre con bajo pH (6.8) y agar Columbia (28).

### 5. Componentes Celulares y Características Antigénicas

A. Cápsula. Durante mucho tiempo se ha discutido si los Staphylococcus forman cápsula o no. En 1931 Gilbert describió cepas capsulares de Staphylococcus aureus. El prototipo de variante mucóide de Staphylococcus aureus fue aislado originalmente por Prince y Kneeland en 1954. La cepa más estudiada es la llamada cepa "Smith", la cual es excepcionalmente virulenta para el ratón por vía intraperitoneal y da reacción negativa de coagulasa en portaobjetos (Hunt y Moses 1958). La cápsula es estrecha y está constituida por un polímero de ácido desoxiaminoglucurónico (Morse 1960, Hanessian y Haskell 1964) la cual es responsable de una marcada actividad antifagocítica (Koenig 1962, Koenig y Melly 1966) (3, -10, 42).

Mediante la técnica de la tinta china pueden ponerse de manifiesto las variantes mucóides que producen cápsula. Según Davis, Yoshida y Ekstedt (1969), han demostrado que estas variantes aumentan en frecuencia si los cultivos se mantienen en medio especial que obtenga peptona, extractos de levadura, manitol, lactosa y un 3% de cloruro de sodio (10).

B. Proteína A. Julianelle y Weighard (1934-1935) extrajeron un polisacárido a partir de Staphylococcus patógenos (tipo A), el cual da un precipitado únicamente con antisuero

de conejo preparado contra otros Staphylococcus patógenos. - Una sustancia similar pero química e inmunológicamente diferente (tipo B), se obtuvo de Staphylococcus no patógenos. Estudios posteriores (Haukenes 1961), muestran que estas sustancias son ácidos teicoicos (42).

El antígeno tipo A de Julianelle y Weighard es un ácido ribitol teicoico beta-N-acetilglucosamina y está presente en la mayoría de las cepas de Staphylococcus aureus. Los Staphylococcus coagulasa negativa tienen ácido glicerol teicoico de uno o tres diferentes tipos, caracterizados respectivamente por su unión a: alfa glucosa (que es el antígeno B descrito por Julianelle y Weighard), beta glucosa y alfa glucosamina (42).

El peso molecular de la proteína A es de 42 000 (1, - 40), posee la propiedad de reaccionar con los fragmentos Fc de las moléculas de IgG de la mayoría de los sueros de mamíferos. Dado que los agregados de IgG resultantes fijan el complemento, dan lugar a reacciones de hipersensibilidad en conejos y cobayos normales. También provocan la formación de factores quimiotácticos derivados de complemento, los cuales explicarían, por lo menos en parte, la característica purulenta de las lesiones estafilocócicas. La proteína A resulta difícil de estudiar, desde el punto de vista inmunológico debido a su gran tendencia a precipitar la gamma globulina normal de los mamíferos. Sin embargo, se ha demostrado que esta proteína posee propiedades antifagocíticas, y es liberada en

el medio durante el proceso de crecimiento (10, 15, 21, 24).

C. Peptidoglucanos. La capa de peptido glucanos equivale al 60% del peso de la pared y es el componente principal de la pared celular de los Staphylococcus (3).

D. Acido Teicoico. El ácido teicoico equivale aproximadamente al 40% del peso de la pared celular de las cepas de Staphylococcus aureus. El ácido teicoico es el principal grupo antigénico de los Staphylococcus (3).

Los dos principales aglutinógenos se detectan en el ácido teicoico, ambos consisten de ribitol N-acetilglucosamina pero difieren en la unión a la N-acetilglucosamina, la cual puede ser alfa o beta. La mayoría de las cepas de Staphylococcus tienen una mezcla de ambos tipos de unión. Se ha demostrado la presencia de anticuerpos contra ambos tipos de ácido teicoico en individuos sanos y en individuos con infecciones estafilocócicas. Anticuerpos para el ácido ribitol teicoico y el ácido glicerol teicoico alfa y beta, pueden encontrarse en el suero normal, su título puede incrementarse después de una infección o inmunización con antígenos purificados (3).

## 6. Mecanismos de Patogenicidad

Los Staphylococcus pueden producir enfermedad tanto por su capacidad de multiplicarse y diseminarse ampliamente

en los tejidos, como por la producción de diversas sustancias extracelulares: enzimas y toxinas (21).

A. Enzimas. En este grupo de sustancias extracelulares producidas por los Staphylococcus se encuentran: coagulasa, hialuronidasa, fosfatasa, nucleasa, proteasa y lipasa (21).

a). Coagulasa. La capacidad de ciertos Staphylococcus de coagular el plasma fue descrito por primera vez en 1903 (3), y se debe a la capacidad de estos microorganismos de producir una sustancia proteica llamada coagulasa, la cual se comporta como una enzima (21).

La coagulasa tiene un peso molecular de 44 000, se han descrito dos tipos: coagulasa libre y coagulasa ligada. Durante muchos años la coagulasa libre fue considerada el factor más importante de virulencia. Se cree que la coagulasa al reaccionar con el fibrinógeno produce un depósito de fibrina en la superficie de la célula, protegiendola de la fagocitosis (3, 21). Estudios posteriores mostraron que cepas coagulasa negativas pueden ser tan virulentas como las cepas coagulasa positiva. Además experimentos "in Vitro" -- han mostrado que no existe ninguna diferencia en la actividad fagocítica cuando se usan cepas coagulasa positiva o cepas coagulasa negativa (3).

La coagulasa ligada es completamente diferente a la coagulasa libre, y en algunas ocasiones se le llama factor

de agrupamiento debido a su capacidad de absorber al fibrinógeno y causar agrupamiento de las células estafilocócicas. - El llamado factor de agrupamiento nunca se ha asociado con la virulencia (3).

La coagulasa libre, también llamada Staphylocoagulasa, reacciona específicamente con la protombina formando un complejo estable de actividad proteolítica específica, llamado Staphylostrombina, el cual convierte al fibrinógeno, proteína plasmática soluble, en fibrina insoluble mediante un proceso similar a la formación fisiológica de trombina. La Staphylostrombina difiere de la trombina en cuanto a la susceptibilidad a diferentes inhibidores, ya que la primera resiste a algunos inhibidores como la heparina y antitrombina III y es inhibida por anticuerpos específicos (41).

En el laboratorio clínico la prueba de coagulasa se usa para diferenciar Staphylococcus aureus (coagulasa positiva) de los Staphylococcus coagulasa negativa (3).

b). Hialuronidasa. La hialuronidasa, también llamada factor de propagación, despolimeriza al ácido hialurónico, - que es el componente más importante del tejido conectivo. El condroitín, un polímero de la galactosamina de ácido hialurónico, también es sometido a la despolimerización por acción de la hialuronidasa. Más del 90% de las cepas coagulasa positiva producen hialuronidasa, mientras que muchas cepas coagulasa negativa no la producen. La hialuronidasa se encuentra



en la célula como una isoenzima. Hay tres isoenzimas en las células estafilocócicas. Estudios recientes indican que las isoenzimas pueden estar asociadas con el tipo de infección estafilocócica. Por ejemplo, las isoenzimas del grupo I predominan en pacientes con pneumonia, nasofaringitis y traqueitis; en endocarditis bacteriana subaguda y bacteremia predominan las isoenzimas del grupo II; en diversos abscesos y heridas infectadas prevalecen isoenzimas del grupo III (3).

La hialuronidasa puede ser importante en la iniciación de la infección, ya que la respuesta inflamatoria del huésped reprime su actividad rápidamente, y no debe ser considerado como un factor de virulencia importante (3).

c). Fosfatasa. Es una enzima extracelular no relacionada con la patogenicidad. Es producida por cepas coagulasa positiva y coagulasa negativa (3).

d). Nucleasa. Se trata de un polipéptido y su actividad se puede correlacionar con la actividad de la coagulasa y puede ser usada como un indicio de patogenicidad. La mayoría de las cepas coagulasa positiva producen nucleasa mientras que la mayoría de las cepas coagulasa negativa no la producen (3, 29).

e). Proteasa. Las proteasas son producidas tanto por cepas coagulasa negativa como por cepas coagulasa positiva

(3).

f). Lipasa. La mayoría de las cepas de origen humano producen lipasa. No existe correlación entre virulencia y actividad de la lipasa (3).

B. Toxinas. Los Staphylococcus patógenos, cuando crecen en medios artificiales, liberan diferentes exotoxinas. Su producción se estimula en cultivos líquidos por incubación en atmósfera de dióxido de carbono al 30%. Las toxinas elaboradas con mayor frecuencia son: cinco hemolisinas inmunológicamente distintas (una cepa puede producir más de un tipo inmunológico de hemolisinas), una leucocidina no hemolítica y cuatro enterotoxinas (3, 10, 21).

a). Hemolisinas:

- Hemolisina alfa. Es producida por más del 95% de las cepas coagulasa positiva, la mayoría de las cepas coagulasa negativa no la producen. Es capaz de lesionar diversos tipos de células, entre las cuales se incluyen los leucocitos humanos y de conejo. Inyectada subcutáneamente produce necrosis en conejos, y pequeñas dosis intravenosas resultan letales para conejos y ratones. Además produce agregación plaquetaria y contracciones espasmódicas de la musculatura lisa (3, 10, 21).

- Hemolisina beta. No se encuentra comúnmente en cepas de origen humano. Se encuentra en más del 90% de las ce

pas coagulasa positiva aisladas de animales. Los eritrocitos de carnero son los más susceptibles a la hemolisina. Los eritrocitos humanos presentan cierta susceptibilidad, aunque la hemolisina beta es mucho menos tóxica para los eritrocitos humanos que la hemolisina alfa (3, 10).

- Hemolisina gamma. Esta toxina hemoliza eritrocitos humanos, de conejo y de carnero, siendo más sensibles los eritrocitos de conejo. La inyección intravenosa de esta toxina no da efecto aparente en la mayoría de las especies (3, 10).

- Hemolisina delta. A diferencia de las otras hemolisinas, ésta es inhibida por componentes del suero como los fosfolípidos. Esta hemolisina es producida por más del 95% de las cepas coagulasa positiva y coagulasa negativa de origen humano. Los eritrocitos, polimorfonucleares y macrófagos del hombre y numerosas especies animales son sensibles a la hemolisina delta. Sus efectos letales y dermonecróticos son sensiblemente menores a los producidos por las hemolisinas alfa y beta. Evidencias recientes muestran que la hemolisina delta tiene actividad enterotóxica (3, 10).

- Hemolisina epsilon. Se conoce poco de esta hemolisina. Es producida principalmente por cepas coagulasa negativa. Los eritrocitos de conejo y carnero son las células más sensibles a esta hemolisina (3).

b). Leucocidina. Presenta actividad únicamente contra leucocitos, son sensibles los leucocitos de diversas espe---

cies animales (21).

La leucocidina es una protefna compuesta por dos unidades F (fast, rápido) y S (Slow, lenta), nomenclatura relacionada con su migración en carboximetil celulosa. Ambos componentes son antigénicos y su neutralización por anticuerpos elimina la acción de la toxina. Su acción consiste en una de granulación de los leucocitos y requiere de la presencia de calcio (3, 10, 21).

c). Enterotoxinas. La mayoría de las cepas enterotogénicas de Staphylococcus son coagulasa positiva, ocasionalmente cepas de Staphylococcus epidermidis producen enterotoxinas (3).

Las enterotoxinas se clasifican en cuatro grupos antigénicos (A, B, C y D). Si estas substancias son ingeridas en cantidades equivalentes a microgramos producen vómitos y diarrea (10). Se producen especialmente cuando los Staphylococcus se desarrollan en los carbohidratos y protefnas de los alimentos, constituyendo una causa importante de envenenamiento (3, 21).

## 7. Patogenicidad y Manifestaciones Clínicas

La mayoría de los seres humanos son portadores de gran número de Staphylococcus y microorganismos afines, en la nariz y la piel (31). Staphylococcus epidermidis, es un germen relativamente no patógeno, se le encuentra como cons-

tituyente de la flora normal de la piel y mucosa de las vías respiratorias y tubo digestivo en un alto porcentaje de los individuos sanos, y sólo en circunstancias muy especiales se les ha incriminado como patógenos, produciendo infecciones de carácter oportunista, habitualmente menos severas que las producidas por Staphylococcus aureus (33).

Aunque Staphylococcus aureus es a menudo residente habitual en individuos sanos, en ciertas circunstancias produce infecciones graves y puede matar a su huésped. La frecuencia del estado portador intermitente se estima en 30 a 50 %. El hecho de que muchos individuos puedan transportar y eliminar Staphylococcus aureus patógeno durante periodos prolongados indica que ellos y la mayoría de sus contactos poseen un grado substancial de inmunidad. Es tan solo en ausencia o debilitamiento de las defensas normales que aumentan las probabilidades de invasión por parte del Staphylococcus aureus -- (31). Así pues la infección estafilocócica aparece a menudo como complicación de traumas accidentales y quirúrgicos, de quemaduras y otras lesiones importantes de la piel y de enfermedades crónicas, caquetizantes, tales como el cáncer, la diabetes mellitus y la cirrosis hepática (10).

Los Staphylococcus aureus usualmente provocan síndromes de fácil diagnóstico, al presentarse con evidencia de inflamación aguda, por ejemplo: celulitis, neumonías, osteomielitis y enterocolitis. Staphylococcus aureus induce en forma característica la formación de grandes cantidades de -

pus y figura en el primer lugar entre las bacterias piógenas. En ciertos casos la infección por Staphylococcus aureus es localizada, y las manifestaciones, generalizadas; son el resultado de la producción de toxinas (31, 38).

La intoxicación alimenticia estafilocócica no es una infección, sino un verdadero envenenamiento resultante de la ingestión de alimentos contaminados que contienen toxina preformada. La fuente de contaminación es con frecuencia un manipulador de alimentos, portador del microorganismo. Los Staphylococcus crecen con gran rapidez, incluso a temperatura ambiente, pudiendo acumularse concentraciones peligrosas de enterotoxina en los alimentos en término de pocas horas. Como la toxina opone gran resistencia al calor, el calentamiento no garantiza en modo alguno la inocuidad de la enterotoxina existente en los alimentos. Al cabo de 1 a 6 horas de la ingestión aparecen náuseas, vómitos y diarrea (28).

#### 8. Reservorios de Infección

Aunque ciertos animales domésticos como equinos y bovinos, pueden ser portadores y contraer infección por Staphylococcus aureus, el portador humano es esencialmente la única fuente de infección en el hombre (31).

A las 4 o 6 horas de nacido un ser humano, se coloniza en la región mucocutánea nasal y posteriormente ésta colonización se disemina en el área respiratoria en diferentes porcen

tajes. Hacia el final de los primeros 10 días de vida, el 90% de los niños son portadores de Staphylococcus aureus. Esta cifra es del 20 al 30% durante el segundo año de vida, y solo durante el 1º y 5º años alcanza de nuevo la cifra del 50%. -- Prácticamente todos los humanos en algún momento de la vida nos colonizamos con Staphylococcus aureus coagulasa positiva (6, 10).

El principal sitio de multiplicación del Staphylococcus aureus en el hombre es la cavidad nasal. De acuerdo a esto, la población general puede dividirse en 3 grupos: 1). portadores continuos. Del 20 al 30% de la población presenta Staphylococcus aureus en la cavidad nasal de manera continua; 2). portadores intermitentes. De 20 a 30% transportan Staphylococcus aureus durante unos cuantos días, pero están libres de ellos por varias semanas; 3). no portadores. Arriba del 60% de la población, nunca porta Staphylococcus aureus en la cavidad nasal (3, 19, 38).

En los hospitales el índice de portadores nasales entre pacientes y personal puede ser de más de 90% (2, 3, 19, 44).

Los portadores más peligrosos son los manipuladores de alimentos y los individuos en contacto frecuente con sujetos susceptibles por ejemplo: médicos, enfermeras, empleados de quirófanos, etc.

Los portadores sanos constituyen la mayor fuente de infección en hospitales, y muchas epidemias con el resultado de

tales infecciones. El personal de enfermería, que maneja pacientes, particularmente infantes, puede ser la fuente inicial de infección. Además las enfermeras pueden adquirir cepas virulentas de Staphylococcus de pacientes o infantes y transportarlos a otros pacientes. Algunos estudios muestran que los portadores nasales tienen un mayor riesgo de septicemia postoperatoria que los no portadores (3, 6, 25). Por lo tanto, es de gran importancia el control de portadores que deberá llevarse a cabo mediante la vigilancia médica del personal, la realización de estudios bacteriológicos en aquellos trabajadores de áreas críticas. El descubrimiento de portadores deberá ser seguido de medidas terapéuticas y de aislamiento cuando ello sea pertinente (25).

Se desconocen los factores que determinan el estado de portador. Sin embargo, en los lactantes con anticuerpos IgG maternos pero que carecen o poseen tan solo cantidades mínimas de anticuerpos de otras clases de inmunoglobulinas es más elevada la frecuencia del estado de portador que en adultos, lo cual sugiere que los anticuerpos de clases distintas a IgG, o que las fuerzas de la inmunidad celular, o bien ambas cosas, contribuyen a la inmunidad en los adultos (31).

#### 9. Resistencia a Antibióticos

Es muy importante el problema terapéutico planteado por los Staphylococcus resistentes a los medicamentos. Es --



esencial que a los Staphylococcus aislados de productos orgánicos se les someta a pruebas de susceptibilidad a antibióticos para ayudar a la elección de dichos medicamentos (10, 21).

Poco después de que la penicilina se convirtiera en la droga principal en el tratamiento de infecciones estafilocócicas, hubo un incremento dramático en la resistencia de los Staphylococcus a la penicilina (3). La resistencia de los Staphylococcus a la penicilina es el resultado directo de la habilidad de las células para producir penicilinasas (3, 21).

La información genética de las enzimas reside en los plásmidos, aunque en algunas cepas las mutaciones cromosomales también pueden ser importantes (3). Posteriormente cuando se usaron otros antibióticos en el tratamiento de infecciones estafilocócicas se observó la aparición de cepas de Staphylococcus con resistencia múltiple, principalmente cepas asociadas a ambientes hospitalarios (3, 9, 10, 21).

La resistencia a los medicamentos del grupo de la eritromicina aparece tan rápidamente que ya no se deben emplear estos medicamentos por separado en el tratamiento de las infecciones crónicas. La resistencia a la tetraciclina y penicilina determinada por plásmidos, se puede transmitir entre los Staphylococcus mediante bacteriófagos transductores (21).

En vista de la rápida aparición de resistencia a los medicamentos entre los Staphylococcus muchos hospitales han restringido el empleo de uno o varios de los medicamentos antiestafilocócicos en el tratamiento de los pacientes gravemen

gea. Cuadro No. 1.

A. Medios de Cultivo. A continuación se describe - los medios de cultivo que se utilizaron para el aislamiento de microorganismos.

a). Agar Sangre. Los medios que contienen sangre - total son los más empleados en el laboratorio de diagnósti- - co. Siendo la sangre desfibrinada de oveja la mejor para pre- - parar agar sangre (9).

El agar sangre es adecuado para aislar microorga- - nismos de difícil crecimiento. Es útil para descubrir la ac- - tividad hemolítica (28).

En la preparación de los medios de cultivo se uti- - lizó sangre desfibrinada de oveja la cual se adicionó al me- - dio base en una proporción del 5%.

b). Agar Sal y Manitol. Es un medio selectivo muy empleado para aislar Staphylococcus patógenos de materiales clínicos diversos (orina, genitales, heridas, exudados farín- - geos, etc.). También se utiliza en la industria alimenticia con los mismos fines, el aislamiento e identificación de Sta- - phylococcus que contaminan alimentos diversos y que producen intoxicaciones alimentarias (28).

La degradación del manitol con producción de ácido cambia el color del medio de rosa a amarillo. Debido a su al- - to contenido de cloruro de sodio puede hacerse una siembra -

te enfermos. Tal restricción puede prolongar el período útil de un nuevo medicamento.

El tratamiento quimioterápico en la infección estafilocócica debe ser intenso, ya que como se mencionó, la resistencia a los medicamentos puede aparecer rápidamente. A veces está indicada la administración simultánea de dos o más medicamentos. Las lesiones con gran supuración deben drenarse a menudo a causa de la resistencia a la terapéutica antimicrobiana de los abscesos ya formados (10).

masiva del material en estudio. Generalmente se incuban las placas unas 36 horas, apareciendo las colonias de Staphylococcus no patógenos de tamaño pequeño y rodeadas de una zona roja; en cambio, las colonias de Staphylococcus patógenos fermentadores del manitol, dan colonias más grandes y rodeadas de una zona amarilla (28).

c). Agar Eosina y Azul de Metileno (EMB). Es un medio selectivo para la investigación de bacilos entéricos y microorganismos coliformes. También es usado para aislar e identificar Candida albicans. A continuación se describen las características de las colonias aisladas en agar EMB -- (28).

Escherichia coli. Colonias de 2 a 3 milímetros de diámetro. Azul negras en la parte central y bordes claros, a la luz transmitida. Presentan brillo metálico a la luz reflejada (9, 28).

Enterobacter aerogenes. Colonias grandes de 4 a 6 milímetros de diámetro. Elevadas y mucoides. Café grisáceas en el centro a la luz transmitida. Generalmente no tienen brillo metálico y sus colonias tienden a unirse (9, 28).

Salmonella y Shigella. Colonias transparentes amarinas hasta colonias incoloras (9, 28).

Proteus spp. Cuando no hay swarming, forma colonias semejantes a la Salmonella y Shigella (9, 28).

Staphylococcus coagulasa positiva. Forman colonias

mente (según se indica más adelante), por lo que no fue necesario el empleo de medio de transporte.

Aproximadamente un 30% de las muestras fueron tomadas fuera del laboratorio, en el sitio de trabajo de los donadores (debido a la falta de cooperación de éstos, que no acudían al laboratorio en la fecha señalada para la toma de muestra). En estos casos el hisopo con la muestra se introdujo en un tubo estéril, llevando inmediatamente las muestras al laboratorio para procesarlas. Tampoco en este caso se usó medio de transporte, ya que el tiempo transcurrido entre la toma de muestra y la siembra de la misma, fue de 5 a 10 minutos.

## 2. Aislamiento e Identificación

La flora de la región faríngea presenta problemas peculiares para el aislamiento e identificación de microorganismos, tanto por lo que se refiere a los componentes de la flora normal como a microorganismos con acción patogénica -- (28).

Los métodos utilizados deben seleccionarse de tal manera que permitan tanto el aislamiento de microorganismos Gram positivos como de Gram negativos, además de detectar -- otros agentes específicos de enfermedades (28).

En este caso el esquema de aislamiento e identificación se seleccionó de acuerdo a los objetivos del trabajo, de manera que permitiera un examen amplio de la flora farín-

### III. MATERIAL Y METODOS

#### 1. Toma de Muestra

Para la realización de este trabajo se recolectaron 300 muestras de exudado faríngeo de individuos aparentemente sanos pertenecientes a la población de la FESC-C1. Las muestras se dividieron de la siguiente manera: 100 muestras de personal académico; 100 muestras de personal administrativo y 100 muestras de estudiantes.

Las muestras de exudado faríngeo se recogieron -- con un hisopo estéril, el cual se introdujo por la boca -- teniendo cuidado de no rozar con la lengua (presionando con un abatelenguas), mejillas u otra superficie de la boca. Cual-- quier lesión evidente (abscesos, folículos o placas) en la -- garganta o en la superficie de las amígdalas o cualquier --- cripta visible se exploró bien con el hisopo, haciéndolo ro-- tar en su superficie; no es suficiente pasarlo suavemente -- por encima. Cuando no se encontraron lesiones visibles, se -- rotó enérgicamente el hisopo sobre las amígdalas y demás su-- perficies, sobre todo en las zonas inflamadas. En estos ca-- sos se recogió material de la región nasofaríngea, que se en-- cuentra detrás y por encima de la úvula (9, 13).

Las muestras se recolectaron en el laboratorio de Microbiología (L-514) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan Campo 1. Dichas muestras se procesaron inmediata-

puntiformes e incoloras (9, 28).

d). Agar Biggy. Es útil para el aislamiento e identificación presuntiva de Candida por medio de la reacción de sulfuro (9, 28).

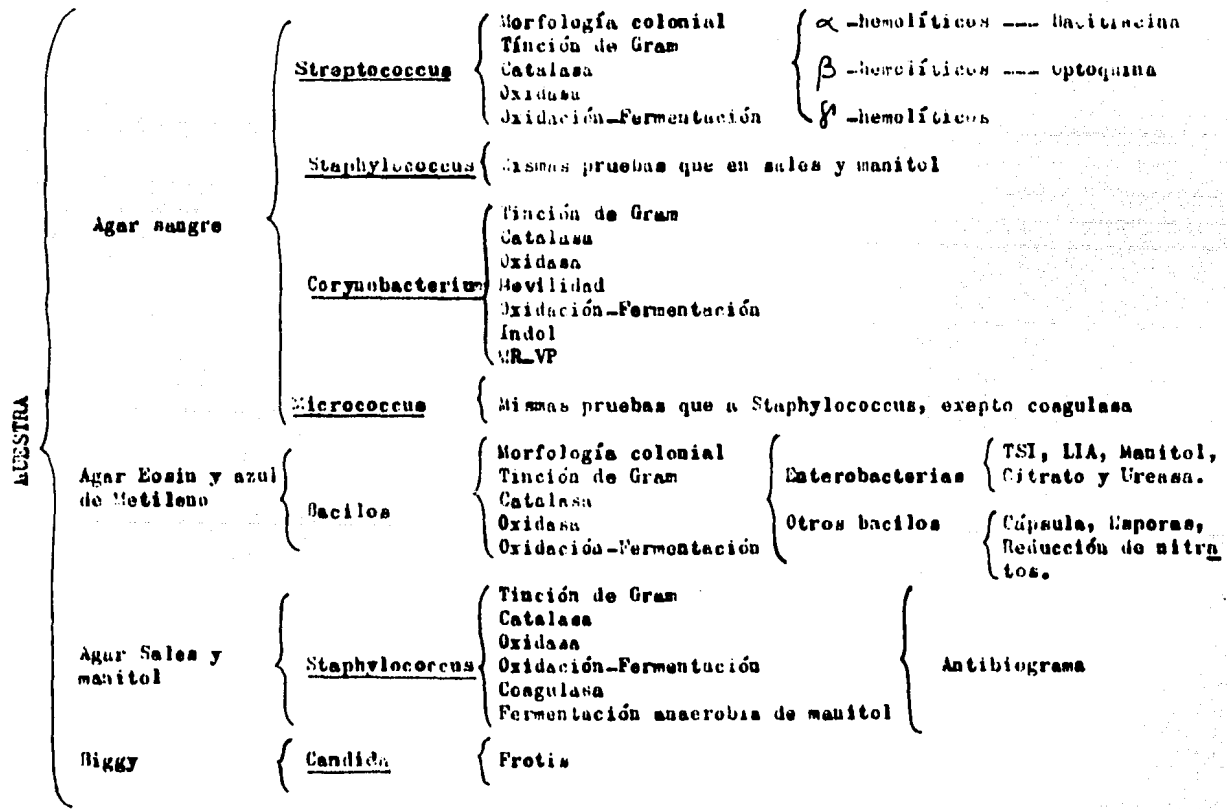
Las colonias de Candida albicans aisladas en este medio son lisas, hemisféricas o circulares, café o negras, con un borde micelial. El enegrecimiento no difunde al medio (9, 28).

B. Pruebas Bioquímicas. En este inciso se describen las pruebas bioquímicas que se realizaron para la identificación de los microorganismos aislados.

a). Tinción de Gram. Se realizó de acuerdo a la técnica descrita a continuación.

Técnica (21).

- Fijar un frotis por calor.
- Cubrir con cristal violeta durante 1 minuto.
- Lavar con agua.
- Cubrir con yodo durante 1 minuto.
- Lavar con agua.
- Decolorar con acetona de 10 a 30 segundos.
- Lavar con agua.
- Cubrir con safranina de 10 a 30 segundos.
- Lavar con agua y dejar secar.
- Observar con el objetivo 100X.



CUADRO No. 1 ESQUEMA DE AISLAMIENTO E IDENTIFICACION



### Interpretación (18)

- Las bacterias Gram positivas se tiñen de color púrpura. Mientras que las bacterias Gram negativas se tiñen de color rojo.

#### b). Movilidad.

##### Técnica. (Método de la gota suspendida) (4).

- Depositar una capa delgada de vaselina alrededor del borde de la depresión de un portaobjetos cóncavo.

- En el centro de un cubreobjetos se coloca, con el asa, una gotita de la suspensión microbiana.

- Tomar el portaobjetos cóncavo y presionar firmemente contra el cubreobjetos de tal manera que éste cubra por completo la depresión.

- Revisar los bordes del cubreobjetos para cerciorarse que la vaselina ha sellado efectivamente.

De esta manera se logra que la gota de suspensión microbiana quede colgando del reverso del cubreobjetos en el interior de la cámara formada por la convexidad del portaobjetos.

- Colocar la preparación bajo el microscopio en posición tal que, a bajo poder, los bordes de la suspensión queden en el centro del campo. Reducir la intensidad de la luz cerrando el diafragma, hasta que el campo empieza a aparecer obscuro. Luego se cambia al objetivo 40X sin cambiar nada más. Enfocar la suspensión.

- Se busca algún microorganismo en movimiento. Los microorganismos se observan como fantasmas, debido a que carecen de color propio y son translúcidos (4).

c). Catalasa. El objetivo de esta prueba es determinar la producción bacteriana de la enzima catalasa. Esta enzima descompone al peróxido de hidrógeno que se forma como un producto terminal oxidativo de la descomposición aeróbica de los azúcares (27).

Técnica. (Método del portaobjetos) (27).

- Recoger con una aguja de inoculación el centro de una colonia pura de 18 a 24 horas y colocarla sobre un portaobjetos de vidrio limpio (la prueba no se aplica si el agar - sangre se introduce en el peróxido de hidrógeno).

- Agregar una gota de peróxido de hidrógeno al 30% sobre el microorganismo del portaobjetos. Usar un gotero.

Precauciones: no invertir el orden del método porque pueden producirse resultados falsos positivos. No mezclar con la aguja o el asa de inoculación. No es necesaria la mezcla del cultivo y el peróxido de hidrógeno.

Interpretación (27).

- Prueba positiva: formación inmediata de burbujas bien visibles (formación de oxígeno).

- Prueba negativa: no hay formación de burbujas (no se forma oxígeno).

d). Oxidasa. Su objetivo es detectar la producción -

bacteriana de la enzima oxidasa (27).

Técnica. (Método indirecto de Kovacs sobre papel) -- (27).

- Colocar un trozo de 6 centímetros cuadrados de papel filtro en una caja de petri.

- Agregar de dos a tres gotas de reactivo de Kovacs (diclorhidrato de tetrametil-p-fenilendiamina al 1%) en el -- centro del papel.

Hacer un extendido con el asa de inoculación de una colonia sospechosa, en el papel impregnado con reactivo siguiendo una línea de 3 a 6 centímetros de longitud.

Interpretación (27).

La reacción oxidasa positiva está indicada por un color negro purpúreo que se desarrolla en el término de 10 segundos; la reacción positiva dentro de los 10 a 60 segundos se considera un resultado retardado. El desarrollo tardío del color, pasado un un período de 60 segundos se considera como una prueba oxidasa negativa.

f). Triple Azúcar Hierro (TSI). Determina la capacidad de un microorganismo de metabolizar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases, junto con la determinación de la posible producción de ácido sulfhídrico (27).

Técnica (27, 28).

La prueba se realiza en un medio semisólido inclina-

do. El cual contiene tres hidratos de carbono (glucosa, lactosa y sacarosa). El indicador de Ph es el rojo de fenol (pH ácido coloración amarilla; pH alcalino coloración roja). El metabolismo de los hidratos de carbono, se detecta por la producción de ácido. El medio se inocula por estria y picadura. Posteriormente se incuba a 37°C durante 24 horas.

La formación de sulfuros se detecta debido a que el medio contiene tiosulfato de sodio, como la bacteria se encuentra en medio ácido (debido al metabolismo de los hidratos de carbono), se produce ácido sulfhídrico. El ácido sulfhídrico es un gas incoloro; por lo tanto, es necesario un segundo indicador para detectar en forma visible su producción. Este indicador es el sulfuro de amonio férrico, que actúa como donador de iones férricos, formandose sulfuro ferroso que es un precipitado negro.

#### Interpretación (27).

- Fermentación de la glucosa: alcalina/ácida.
- Fermentación de lactosa y glucosa: ácida/ácida.
- No fermentación de lactosa, ni de glucosa: alcalina/alcalina.
- Producción de ácido sulfhídrico: formación de un precipitado negro.
- También se puede detectar la producción de gases (anhídrido carbónico e hidrógeno), lo que se manifiesta por el desplazamiento del medio del fondo del tubo dejando un área clara, o una ligera muesca del medio en el costado del

tubo.

g). Descarboxilación de la Lisina (LIA). Prueba bioquímica que permite medir la capacidad enzimática de un microorganismo para descarboxilar un aminoácido formando una amina, con la consiguiente alcalinidad (27).

Técnica (27, 28).

La prueba se realiza en un medio inclinado que contiene un aminoácido específico, en este caso la lisina; la inoculación se realiza por estría con inóculo liviano. El indicador de pH es el púrpura de bromocresol (pH ácido coloración amarilla; pH alcalino coloración púrpura).

El medio contiene glucosa. La fermentación inicial de la glucosa ocasiona una coloración amarilla del medio (después de 24 horas de incubación). Los cultivos que producen descarboxilación de la lisina forman cadaverina y el medio vuelve a tomar el color púrpura alcalino (después de 48 horas de incubación). Por lo tanto el color púrpura en el medio se considera un resultado positivo que indica la descarboxilación de la lisina.

La incubación se realiza a 35°C durante 24 horas a 4 días con exámenes diarios.

Interpretación (27).

- Prueba positiva: Púrpura turbio a un púrpura amarillento apagado (producido por la cadaverina).

- Prueba negativa: color amarillo claro y brillante

(fermentación de la glucosa).

h). Prueba de Indol. Mediante esta prueba bioquímica se determina la capacidad de un microorganismo de desdoblar - el indol de la molécula de triptofano (27). Con el uso del medio SIM es posible determinar además de la formación de indol, la producción de sulfuros y la movilidad de los microorganismos (28).

Técnica (27, 28).

Es un medio semisólido que se inocular por picadura - con asa recta, hasta unos 3/4 de la longitud de la columna; - se incuba a 35°C de 18 a 24 horas. La producción de sulfuros se detecta de igual manera que en el medio TSI (descrito en - el inciso anterior), pues el medio contiene tiosulfato de sodio y sulfuro de amonio férrico. La motilidad del germen se - revela por la turbidez difusa en el seno del medio.

Para determinar la formación de indol se utiliza el reactivo de Ehrlich (p-dimetilamino-benzaldehído (2 gramos); alcohol etílico absoluto (190 mililitros) y ácido clorhídrico concentrado (40 mililitros). Se deben agregar 5 gotas del reactivo en el tubo incubado 24 horas, agitando suavemente.

Interpretación (27).

- Prueba positiva: formación de un anillo rojo en la superficie del medio.

- Prueba negativa: no se produce color; toma el color del reactivo de Ehrlich (amarillo).

- Variable (+/-): un color anaranjado en la superficie del medio, debido al desarrollo del escatol, compuesto metilado que puede ser un precursor de la formación del indol.

i). Citratos. Su objetivo es determinar si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para el metabolismo, provocando alcalinidad (27).

Se trata de un medio semisólido inclinado cuyo indicador de pH es el azul de bromotimol (pH ácido coloración amarilla; pH alcalino coloración azul). El medio se inocula es-triando la superficie con un inóculo liviano. Los cultivos se incuban durante 4 días de 35 a 37°C.

Interpretación (27).

- Prueba positiva: crecimiento con un vire del medio a un color azul intenso.

- Prueba negativa: no se observa crecimiento ni cambio de color.

j). Ureasa. Prueba útil para determinar la capacidad de un microorganismo de desdoblar la urea, formando dos moléculas de amoníaco por acción de la enzima ureasa (27).

Es un medio líquido cuyo indicador de pH es el rojo de fenol (pH ácido coloración amarilla; pH alcalino coloración rojo rosado). Debe sembrarse con un inóculo pesado, se incuba a 37°C por 24 horas (27).

Interpretación (27).

- Prueba positiva: color rojo rosado intenso en todo el medio.

- Prueba negativa: no se produce cambio de color.

k). Malonato. Mediante esta prueba se determina la capacidad de un microorganismo de utilizar malonato de sodio como única fuente de carbono, con la consiguiente alcalinidad (27).

Es un medio líquido cuyo indicador de pH es el azul de bromotimol (pH ácido coloración amarilla; pH alcalino coloración azul intenso). Se debe aplicar un inóculo poco denso; el medio se incuba a 35°C de 24 a 48 horas (27).

Interpretación (27).

- Prueba positiva: color azul claro a azul de prusia intenso en todo el medio.

- Prueba negativa: no se observa cambio de color --- (verde) o aparece coloración amarilla (únicamente fermentación de la glucosa).

l). Rojo de Metilo - Voges Proskauer (MR-VP). La --- prueba de rojo de metilo es útil para diferenciar aquellos microorganismos que producen y mantienen una concentración alta de ácidos, de aquellos que producen inicialmente una menor -- cantidad y además son capaces de atacar a estos mismos ácidos, volviendo el medio neutro o alcalino. La prueba de Voges Proskauer, permite determinar la capacidad de algunos microorganismos de elaborar un producto final neutro, el acetilmetilcarbino] (acetoína) a partir de la fermentación de la glucosa (27).



Para la realización de esta prueba se usa el medio de MR-VP, al cual se le aplica un inóculo ligero (28).

**Interpretación (27, 28).**

La prueba de RM se determina después de incubar de 18 a 24 horas. Por lo tanto, se retira asépticamente una -- alicuota para la reacción de VP, la cual se realiza después de 48 horas de incubación.

- Prueba de rojo de metilo: se agregan 5 gotas de una solución de rojo de metilo al 0.04%. Una prueba positiva dará un color rojo y una negativa un color amarillo.

- Prueba de Voges Proskauer: se deben adicionar -- 0.6 mililitros de una solución de alfa-naftol al 5% y 0.2 -- mililitros de una solución de hidróxido de potasio al 40%. Un color rosado constituye una prueba positiva y la ausencia de color una prueba negativa.

m). Sensibilidad a la Optoquina (Mediante el uso -- de discos diferenciales). El objetivo de esta prueba es demostrar la susceptibilidad de un organismo a la sustancia química optoquina. La prueba se usa específicamente para diferenciar entre Streptococcus pneumoniae (sensible) y otras especies de Streptococcus alfa hemolíticos (resistentes) -- (27).

**Técnica (13, 27).**

- Seleccionar dos o tres colonias alfa hemolíticas puras del microorganismo a probar.

- Para la realización de la prueba se usa agar sangre. La placa de agar se divide en cuadrantes de tal manera que en una sola placa se realiza la prueba de cuatro microorganismos.

- Las colonias previamente seleccionadas se toman con un hisopo estéril, el cual se pasa sobre uno de los cuadrantes.

- Asépticamente, con una pinza pasada por la llama, se retira el disco de optoquina (disco de 10 mm) de su envase y se aplica sobre el sector de la placa fraccionada inoculado. Se aplica una suave presión sobre el disco para que se adhiera a la superficie del medio, cuidando que el disco no se hunda.

- Incubar a 35°C de 18 a 24 horas.

Interpretación (3, 27).

- Sensible: Hay inhibición del crecimiento alrededor del disco, lo cual se denota por una zona clara alrededor de éste. Se toma como sensible a aquel microorganismo -- que presente esta zona de inhibición.

- Resistente: No se inhibe el crecimiento alrededor del disco.

n). Sensibilidad a la Bacitracina (Mediante el uso de discos diferenciales). El objetivo de esta prueba es determinar la susceptibilidad de un microorganismo a la bacitracina.

Esta prueba permite diferenciar a los Streptococcus beta hemolíticos del grupo A (sensibles) de otros Streptococcus beta hemolíticos que son resistentes (13).

Técnica (13).

- La prueba se realiza sobre una placa de agar sangre dividida en cuadrantes.

- Se usa un inóculo abundante de un cultivo puro. - Las colonias se toman con un hisopo estéril el cual se pasa sobre uno de los cuadrantes.

- Se toma un disco de bacitracina (4U) con una pinza previamente pasada por la llama, el disco se aplica sobre las estrias del cuadrante inoculado. Se presiona suavemente para que se adhiera el disco, pero se evita hundirlo.

- Se incuba a 35°C durante 18 a 24 horas.

Interpretación (13).

- Sensible: Toda zona de inhibición, cualquiera que fuera su diámetro, se toma como un cultivo sensible.

- Resistente: La ausencia de zonas de inhibición -- (crecimiento hasta la orilla misma del disco), se toma como un cultivo resistente.

o). Fermentación Anaerobia de Manitol. El objetivo de esta prueba es determinar la capacidad de un microorganismo de fermentar un hidrato de carbono específico (manitol) - incorporado a un medio básico, produciendo ácido, o ácido -- con gas visible (27).

Esta prueba es útil para diferenciar las especies Staphylococcus aureus (prueba positiva) de Staphylococcus epidermidis (prueba negativa) (27).

Técnica (27).

- A 2 mililitros de medio básico, se les adiciona 1 mililitro de manitol al 1%. Para determinar el cambio de pH se usa el indicador de Andrade (pH ácido coloración rosada; pH alcalino coloración amarilla).

- El medio se inocula con un cultivo puro de 18 a 24 horas (se usa un inóculo pesado). La muestra se toma asepticamente con la aguja de inoculación y se introduce en el tubo de hidrato de carbono.

- Una vez inoculado el tubo se sella con 1 mililitro de vaselina fundida estéril.

- Se incuba a 35°C. La incubación se prolonga hasta 30 días para considerar negativo un resultado.

Interpretación (27).

- Prueba positiva: vire del medio a color rosado. La producción de gas se detecta por desplazamiento del tapón.

- Prueba negativa: no hay vire del medio.

p). Coagulasa. Su objetivo es comprobar la facultad de un microorganismo de coagular el plasma por acción de la enzima coagulasa. Esta prueba se utiliza de manera específica en la diferenciación de especies pertenecientes al género Staphylococcus; Staphylococcus aureus (reacción positiva) de otras espe--

cies de *Staphylococcus coagulasa* negativa. La prueba de coagulasa positiva es el criterio diagnóstico final para la identificación del *Staphylococcus aureus* (27).

Técnica (prueba del tubo de ensayo) (27).

- En un tubo de ensayo estéril se depositan 0.5 mililitro de plasma humano (diluido 1:2). Se recoge con el asa una buena cantidad de una colonia pura de una placa de agar y se agrega al tubo que ya contiene el plasma.

- Para suspender el microorganismo se hace girar suavemente el tubo. Se evita la agitación violenta.

- Se incuba en baño de agua a 37°C durante 4 horas (observando cada 30 minutos para detectar la formación de coagulo). Mientras se efectúa la prueba no agitar ni sacudir el tubo. Para observar el coagulo se inclina el tubo con cuidado.

- Si al cabo de 4 horas no se detecta la formación de coagulo visible, se deja en baño de agua o en incubadora a 35°C hasta el día siguiente.

- Se debe montar un control negativo y un control positivo para cada prueba.

Interpretación (27).

- Prueba positiva: Formación de coagulo o filamento de fibrina definidos.

- Prueba negativa: sin formación de coagulo, la suspensión se mantiene homogénea.

C. Diferenciación de Streptococcus. Para la diferenciación de Streptococcus se consideró:

- Morfología colonia.
- Hemólisis.
- Tinción de Gram.
- Agrupamiento.
- Oxidasa.
- Catalasa.
- Oxidación - Fermentación.
- Sensibilidad a la bacitracina.
- Optoquina.

Observar el cuadro No. 2 (13, 19).

D. Diferenciación de los géneros: Micrococcus y Staphylococcus. En la diferenciación de estos géneros se consideraron las siguientes pruebas:

- Tinción de Gram.
- Agrupamiento.
- Catalasa.
- Oxidasa.
- Oxidación - Fermentación.

Observar el cuadro No. 3 (3, 33, 36).

E. Diferenciación del Staphylococcus aureus de otras especies de Staphylococcus. Las pruebas más relevantes para la identificación de Staphylococcus aureus son:

- Morfología colonial.

	<u>Streptococcus</u> alfa hemolíticos		<u>Streptococcus</u> beta hemolíticos		<u>Streptococcus</u> gamma hemolíticos
	< -hemolíticos	neumococos	grupo A	grupo B	ticos
Morfología Colonial	z	z'	z	z	z
Tinción de Gram	+	+	+	+	+
Agrupación	cadena	cadena cortas y pares	cadena	cadena	cadena
Oxidasa	-	-	-	-	-
Catalasa	-	-	-	-	-
O-F	F	F	F	F	F
Bacitracina	NP	NP	sensible	resistente	NP
Optoquina	resistente	sensible	NP	NP	NP

NP = no se practicó

z = colonias puntiformes, brillantes y transparentes

z' = colonias puntiformes, brillantes, transparentes y elevadas en el centro

CUADRO No. 2 DIFERENCIACION DE Streptococcus

	<u>Micrococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>
Cocos Gram positivos	+	+
Agrupamiento {	racimos irregulares	+
	tetradas	v
Catalasa	+	+
Oxidasa	-	-
Oxidación - Fermentación	O	F

v = variable

CUADRO No. 3 DIFERENCIACION DE LOS GENEROS: Micrococcus Y Staphylococcus



	<u>Staphylococcus aureus</u>	<u>Staphylococcus</u> spp.
Morfología colonial	z	z
Cocos Gram positivos	+	+
Oxidasa	-	-
Catalasa	+	+
Congulasa	-	-
Fermentación anaerobia de manitol	+	-

z = Colonias grandes redondas. Generalmente producen pigmento dorado.

z = Colonias grandes redondas y blancas.

CUADRO No. 4 DIFERENCIACIÓN DEL Staphylococcus aureus DE OTRAS ESPECIES DE  
Staphylococcus

- Producción de coagulasa.
- Fermentación de manitol anaerobio.
- Estas pruebas son usadas rutinariamente en el laboratorio clínico (3, 28). Siendo la coagulasa la prueba más -- contundente para la identificación de Staphylococcus aureus - (43). Observar el cuadro No. 4.

F. Identificación de las bacterias aisladas en EMB.

Para la identificación de estas bacterias se realizaron las - siguientes pruebas:

- Tinción de Gram.
- Motilidad.
- Catalasa.
- Oxidasa.
- Oxidación - Fermentación.
- Triple azúcar hierro.
- Descarboxilación de la lisina.
- Indol.
- Citratos.
- Ureasa.
- Malonato.
- Rojo de metilo.
- Voges - Proskauer.

Las cuales se seleccionarán de acuerdo al cuadro No.

5.

G. Identificación de Corynebacterium. Para la identi

ficación de Corynebacterium aislados en agar sangre se usaron las pruebas que se reportan en el cuadro No. 6.

### 3. Sensibilidad a Antibióticos.

El uso indiscriminado que se hace de los antimicrobianos, tanto en la población general como en el ambiente hospitalario, ha dado lugar a la aparición de cepas resistentes a uno o varios antimicrobianos. Esto lleva a la necesidad de conocer el patrón de susceptibilidad de las cepas aisladas, en los casos clínicos, frente a los antimicrobianos disponibles, teniendo en consideración que tal patrón varía ampliamente, dependiendo del género, la especie y aun del sitio donde se aísla el microorganismo (26).

En este trabajo se usaron multidiscos. La prueba consiste en colocar un disco impregnado con determinada cantidad de antimicrobiano, sobre un medio sólido inoculado con bacterias, el antimicrobiano difunde, formandose un gradiente de concentración, el cual podrá inhibir o no el crecimiento de la bacteria (26).

Cada multidisco contiene aproximadamente:

Cefotaxima .....	30 mcg.
Ampicilina .....	10 mcg.
Cefalosporina .....	30 mcg.
Cloxaciclina .....	1 mcg.
Eritromicina .....	15 mcg.
Gentamicina .....	10 mcg.
Lincomicina .....	2 mcg.

	Microorganismos entéricos					Otros microorganismos		
	<i>Escherichia coli.</i>	<i>Klebsiella spp.</i>	<i>Enterobacter hafniae.</i>	<i>Serratia spp.</i>	<i>Pseudomona spp.</i>	<i>Haemophilus haemolyticus</i>	<i>Bacillus spp.</i>	<i>Bacteroides oralis.</i>
Gram	bacilos G (-)	bacilos G (-)	bacilos G (-)	bacilos G (-)	bacilos G (+)	bacilos G (-)	bacilos G (+)	bacilos G (-)
Catalasa	+	+	+	+	+	+	+	-
Oxidasa	-	-	-	-	+	-	d	-
Movilidad	d	-	+	+	+	-	+	-
O/F	F	F	F/O	F	O	NP	F	F
IMVIC	++	-++	-+	++	-++	d+	++	-+d
Ureasa	-	+	-	NP	NP	-	d	NP
Malonato	-	+	NP	NP	NP	+	-	NP
LIA	+	+	+	+	NP	NP	NP	NP
TSI	NP	NP	alc/alc	ac/ac	NP	NP	NP	NP
Factor X/V	NP	NP	NP	MP	NP	+/-	NP	NP
Lactosa	+	d	+	d	-	NP	NP	NP
Reducción de nitratos	NP	NP	NP	NP	-	NP	NP	NP
Capsula	-	+	NP	NP	+	NP	NP	NP
Esporas	-	NP	NP	NP	NP	NP	+	NP

d = dudosa    NP = no se practicó

CUADRO No. 5 PRUEBAS PARA LA DIFERENCIACION DE BACTERIAS AISLADAS EN EMB.

<u>Corynebacterium</u> spp.	
Tinción de Gram	Bacilos G(+)
Catalasa	+
Oxidasa	d
Movilidad	-
Oxidación-Fermentación	+
Ureasa	-

d = dudosa

CUADRO No. 3 PRUEBAS DE IDENTIFICACION DE Corynebacterium.

Canamicina .....	30 mcg.
Penicilina .....	10 U.
Estreptomicina .....	10 mcg.
Sulfametoxazol - trimetropín .....	25 mcg.
Tetraciclina .....	30 mcg.

#### Técnica (26).

- La prueba se realiza en agar Mueller - Hinton. Ya que este medio favorece el crecimiento de casi todos los microorganismos para los que son más importantes las pruebas de susceptibilidad. En el caso de antibiogramas realizados a Streptococcus la prueba se realiza en agar sangre para que no se vea inhibido el crecimiento de las bacterias.

- Tocar con el asa 4 o 5 colonias aisladas del mismo tipo morfológico e inocular en 4 mililitros de medio de cultivo, en este caso se usó caldo soya tripticasa. Incubar a 35°C hasta que aparece una turbidez ligera (5 horas).

La turbidez se ajusta con una solución salina estéril hasta tener una densidad comparable con un estándar de sulfato de bario.

El estándar se prepara mezclando 0.5 mililitros de cloruro de bario 0.048 M (1.175% peso/volumen de cloruro de bario dihidratado) con 99.5 mililitros de ácido sulfúrico al 1% volumen/volumen (0.36 N), que es la mitad de la densidad del estándar número 1 de MacFarland, que se denomina a menudo estándar 0.5 de MacFarland. Este estándar corresponde a ----

aproximadamente  $10^8$  microorganismos. La suspensión ajustada del inóculo no debe permanecer más de 15 a 20 minutos de proceder a sembrarla en la caja de petri.

- Para inocular el agar se utiliza un hisopo, el cual se humedece con la suspensión se quita el exceso de caldo presionando y girando el hisopo sobre la pared interna -- del tubo, por arriba del nivel del caldo. Se estría el medio en tres direcciones sobre la totalidad de la superficie del agar, para obtener un inóculo uniforme. Se efectúa un último barrido del hisopo sobre el reborde de la caja de petri y el agar.

Cuando el inóculo a secado (de 3 a 5 minutos) se procede a colocar los discos.

- Los discos se toman con pinza estéril y se colocan en el medio. Los discos deberán presionarse ligeramente para asegurar un contacto con la superficie. Se deberá prevenir una sobreposición de las zonas de inhibición con una distribución adecuada de los discos y con un límite no menor de 15 milímetros de los bordes de la placa.

- Después de haber colocado los discos, se invierte la caja de petri y se incuba en aerobiosis a  $35^{\circ}\text{C}$ . El tiempo de incubación es de 16 a 18 horas.

- La medida de los halos de inhibición se hace con regla, por el fondo de la caja la cual se ilumina con luz reflejada. Cuando se utiliza medio con sangre, la lectura se efectúa sobre la superficie del agar.

## IV. RESULTADOS

1. A partir de las 300 muestras de exudado faríngeo se aislaron 17 microorganismos diferentes; los porcentajes (gráfica 1) fueron los siguientes:

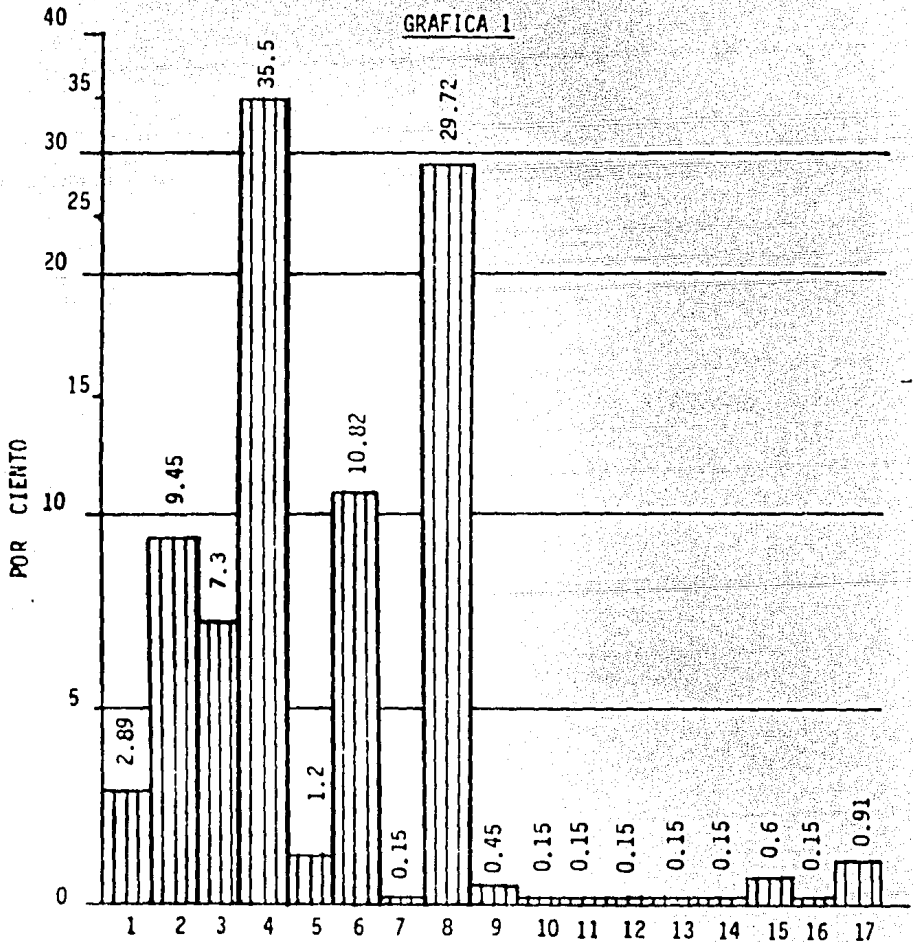
1.	<u>Micrococcus</u> spp. _____	2.89 %
2.	<u>Staphylococcus aureus</u> _____	9.45 %
3.	<u>Staphylococcus</u> spp. coagulasa negativa _____	7.31 %
4.	<u>Streptococcus</u> $\alpha$ hemolítico _____	35.51 %
5.	<u>Streptococcus</u> $\beta$ hemolítico gpo. B _____	1.20 %
6.	<u>Streptococcus</u> $\gamma$ hemolítico _____	10.82 %
7.	<u>Streptococcus pneumoniae</u> _____	0.15 %
8.	<u>Neisseria</u> spp. _____	29.72 %
9.	<u>Escherichia coli</u> _____	0.45 %
10.	<u>Klebsiella</u> spp. _____	0.15 %
11.	<u>Enterobacter hafniae</u> _____	0.15 %
12.	<u>Serratia liquefaciens</u> _____	0.15 %
13.	<u>Pseudomona</u> spp. _____	0.15 %
14.	<u>Haemophilus haemolyticus</u> _____	0.15 %
15.	<u>Bacillus</u> spp. _____	0.60 %
16.	<u>Bacteroides oralis</u> _____	0.15 %
17.	<u>Corynebacterium</u> spp. _____	0.91 %

Observar la gráfica 1.



PORCENTAJE DE BACTERIAS AISLADAS  
EN LA POBLACION TOTAL

GRAFICA 1



1. Micrococcus spp.
2. S. aureus
3. S. spp. coagulasa negativa
4. S. α - hemolítico
5. S. β - hemolítico grupo B
6. S. γ - hemolítico
7. S. pneumoniae
8. Neisseria spp.

9. Escherichia coli
10. Klebsiella spp.
11. Enterobacter hafniae
12. Serratia spp.
13. Pseudomona spp.
14. Haemophilus haemolyticus
15. Bacillus spp.
16. Bacteroides oralis
17. Corynebacterium spp.

2. Analizando los grupos en que se dividieron las -- 300 muestras (100 muestras de personal académico; 100 muestras de personal administrativo y 100 muestras de estudiantes), los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Personal administrativo (gráfica 2).

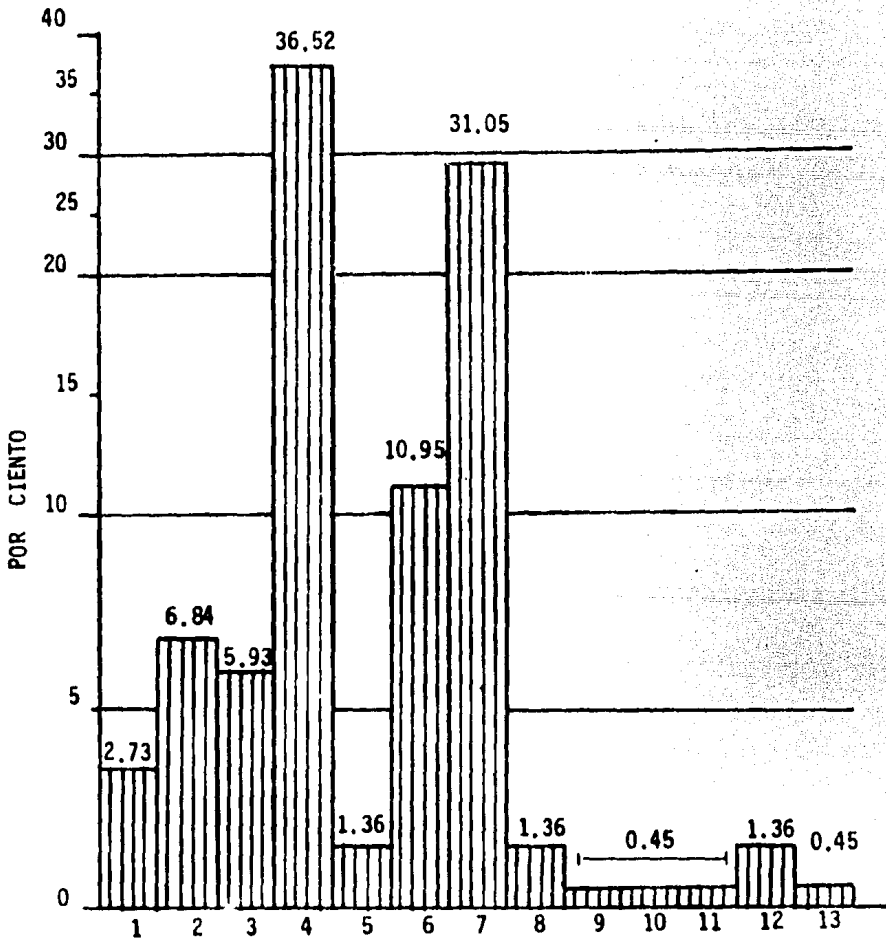
1.	<u>Micrococcus</u> spp.	2.73 %
2.	<u>Staphylococcus aureus</u>	6.84 %
3.	<u>Staphylococcus</u> spp. coagulasa negativa	5.93 %
4.	<u>Streptococcus</u> $\alpha$ hemolítico	36.52 %
5.	<u>Streptococcus</u> $\beta$ hemolítico gpo. B	1.36 %
6.	<u>Streptococcus</u> $\gamma$ hemolítico	10.95 %
7.	<u>Neisseria</u> spp.	31.05 %
8.	<u>Escherichia coli</u>	1.36 %
9.	<u>Enterobacter hafniae</u>	0.45 %
10.	<u>Serratia</u> spp.	0.45 %
11.	<u>Haemophilus haemolyticus</u>	0.45 %
12.	<u>Bacillus</u> spp.	1.36 %
13.	<u>Bacteroides oralis</u>	0.45 %

Personal docente (gráfica 3).

1.	<u>Micrococcus</u> spp.	6.15 %
2.	<u>Staphylococcus aureus</u>	8.20 %
3.	<u>Staphylococcus</u> spp. coagulasa negativa	2.56 %
4.	<u>Streptococcus</u> $\alpha$ hemolítico	40.00 %
5.	<u>Streptococcus</u> $\beta$ hemolítico gpo. B	0.51 %

PORCENTAJE DE BACTERIAS AISLADAS  
EN EL PERSONAL ADMINISTRATIVO

GRAFICA 2



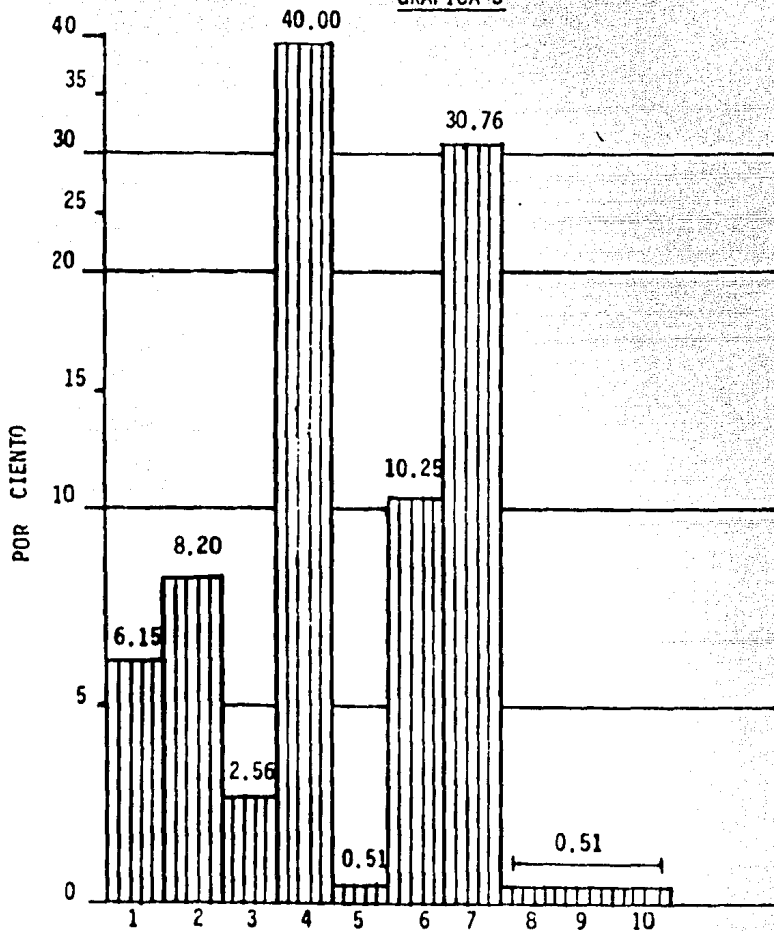
1. Micrococcus spp.
2. S. aureus
3. S. spp. coagulasa negativa
4. S. α - hemolítico
5. S. β - hemolítico grupo B
6. S. γ - hemolítico
7. Neisseria spp.

8. Escherichia coli
9. Enterobacter hafniae
10. Serratia spp.
11. Haemophilus haemolyticus
12. Bacillus spp.
13. Bacteroides oralis

PORCENTAJE DE BACTERIAS AISLADAS

EN EL PERSONAL DOCENTE

GRAFICA 3



1. Micrococcus spp. -
2. Staphylococcus aureus
3. spp. coagulasa negativa
4. α - hemolítico
5. β - hemolítico grupo B
6. γ - hemolítico

7. Neisseria spp.
8. Klebsiella spp.
9. Bacillus spp.
10. Corynebacterium spp.

6.	<u>Streptococcus</u> $\gamma$ hemolítico	10.25 %
7.	<u>Neisseria</u> spp.	30.76 %
8.	<u>Klebsiella</u> spp.	0.51 %
9.	<u>Bacillus</u> spp.	0.51 %
10.	<u>Corynebacterium</u> spp.	0.51 %

Población estudiantil (gráfica 4).

1.	<u>Micrococcus</u> spp.	0.41 %
2.	<u>Staphylococcus aureus</u>	12.80 %
3.	<u>Staphylococcus</u> spp. coagulasa negativa	12.39 %
4.	<u>Streptococcus</u> $\alpha$ hemolítico	30.99 %
5.	<u>Streptococcus</u> $\beta$ hemolítico gpo. B	1.65 %
6.	<u>Streptococcus</u> $\gamma$ hemolítico	11.15 %
7.	<u>Streptococcus pneumoniae</u>	0.41 %
8.	<u>Neisseria</u> spp.	27.68 %
9.	<u>Pseudomona</u> spp.	0.41 %
10.	<u>Corynebacterium</u> spp.	2.06 %

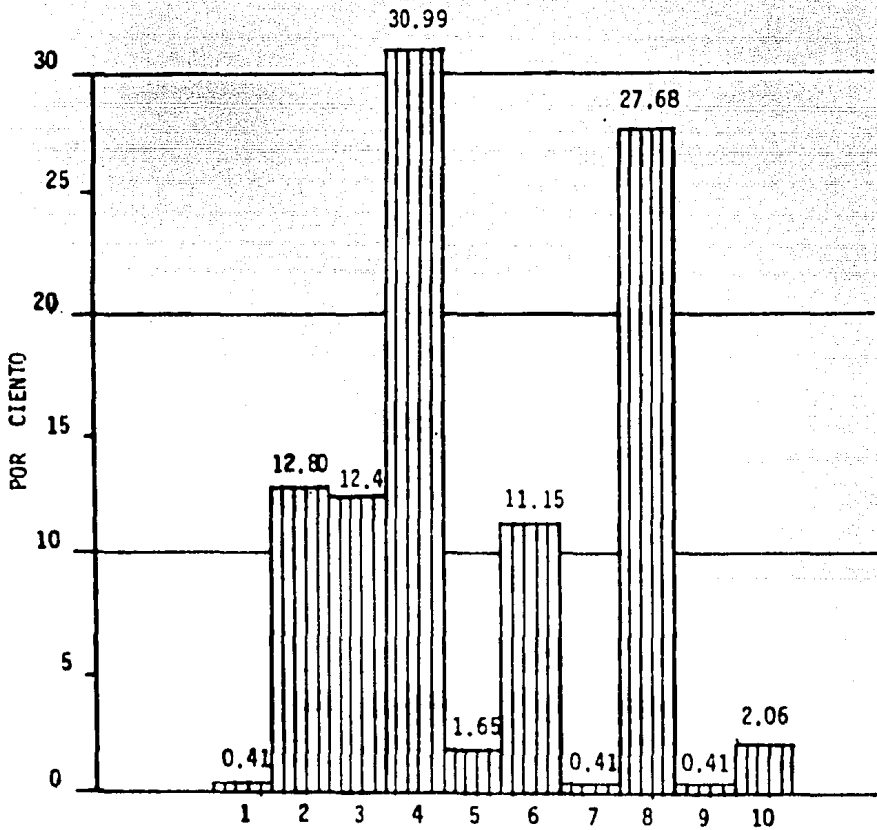
3. En las 300 muestras se aislaron un total de 656 - microorganismos; de los cuales 110 fueron Staphylococcus lo que representa el 16.76 %.

De los 110 Staphylococcus aislados, 62 fueron Staphylococcus aureus (56.63 %) y 48 Staphylococcus spp. coagulasa negativa (43.63 %) (gráfica 5).

4. Las 300 muestras se trabajaron de Octubre de 1985 a Marzo de 1986; el número de muestras tomadas por mes así -

PORCENTAJE DE BACTERIAS AISLADAS  
EN LA POBLACION ESTUDIANTIL

GRAFICA 4

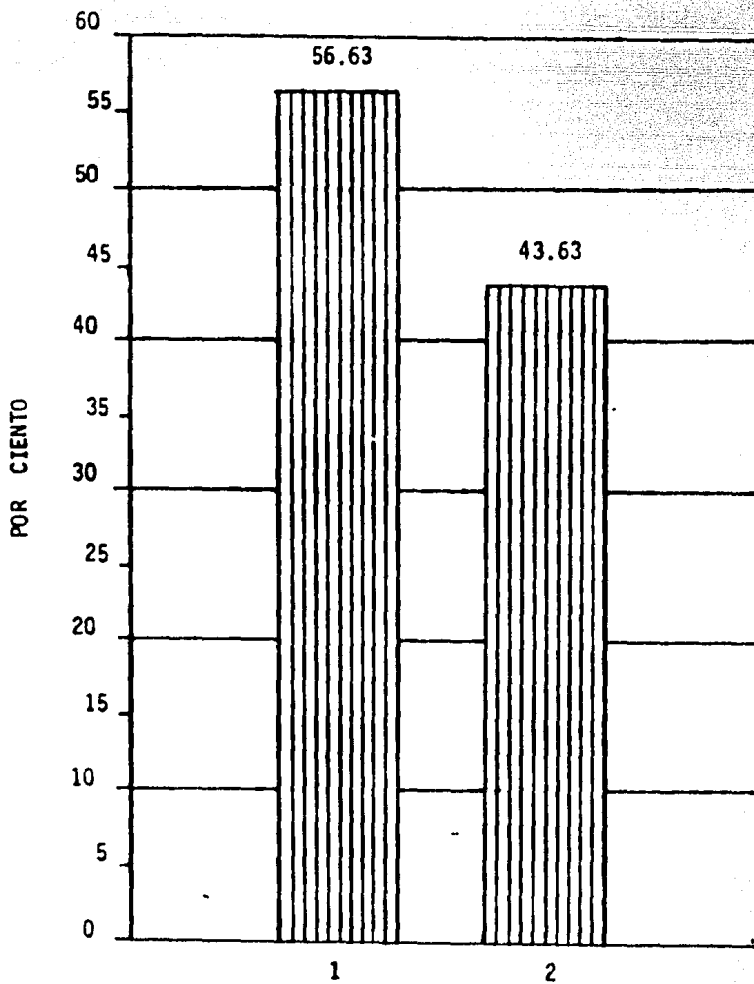


1. Micrococcus spp.
2. S. aureus
3. S. spp. coagulasa negativa
4. S. α - hemolítico
5. S. β - hemolítico grupo B

6. S. γ - hemolítico
7. S. pneumoniae
8. Neisseria spp.
9. Pseudomonas spp.
10. Corynebacterium spp.

PORCENTAJE DE Staphylococcus  
AISLADOS EN LA PORBLACION TOTAL

GRAFICA 5



1. Staphylococcus aureus

2. Staphylococcus spp. coagulasa negativa

como el número de Staphylococcus aureus aislados en cada período, se reportan en el siguiente cuadro.

	No. de muestras	No. de <u>S. Aureus</u> aislados	Porcentaje
Octubre	23	3	13.04 %
Noviembre	68	23	33.82 %
Diciembre	40	8	20.00 %
Enero	60	12	20.00 %
Febrero	99	16	16.60 %
Marzo	10	0	00.00 %

Observar la gráfica 6.

5. Respecto a la hemólisis, de los 62 Staphylococcus aureus aislados 45 resultaron  $\beta$  hemolíticos, lo que representa el 72.58 % y 17 no presentaron ningún tipo de hemólisis y representan el 27.41 % (gráfica 7).

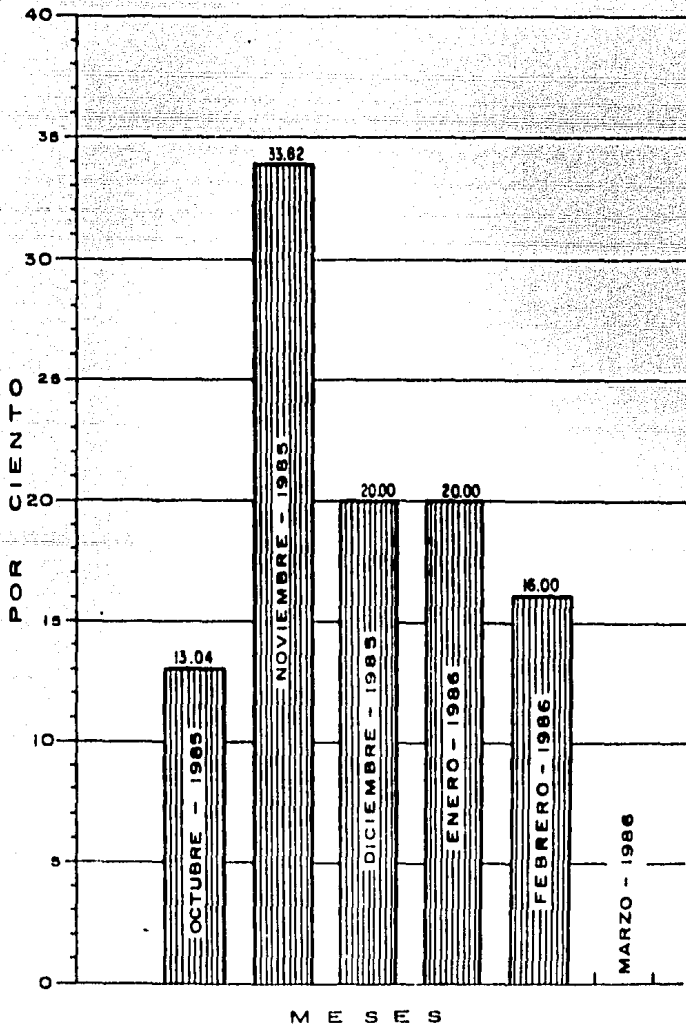
6. En cuanto a la producción de pigmento, 72.03% de los Staphylococcus aureus aislados produjeron pigmento - amarillo dorado y 20.96 % no lo produjeron (gráfica 8).

7. Para poder llevar a cabo una relación entre portadores de Staphylococcus aureus y fumadores se encuestó a los donadores sobre ello. Los resultados obtenidos mostraron que de los 62 portadores de Staphylococcus aureus; 17 -



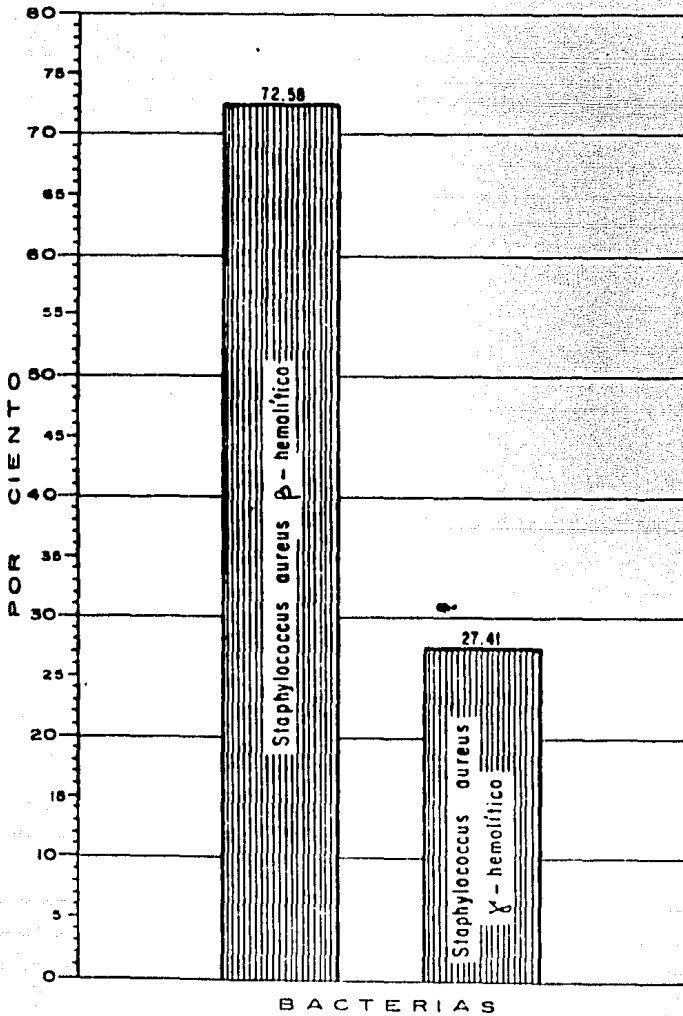
PORCENTAJE DE *Staphylococcus aureus* AISLADOS  
DURANTE LOS MESES QUE COMPRENDIERON EL MUESTREO

GRAFICA No. 6



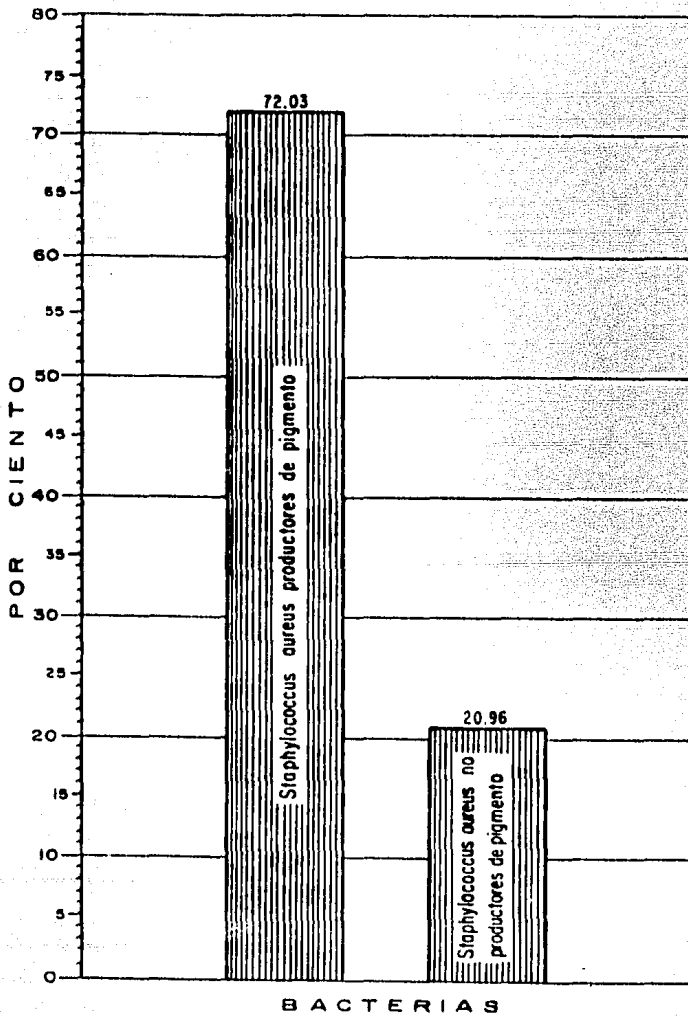
PORCENTAJE DE Staphylococcus aureus BETA Y GAMMA  
HEMOLITICOS AISLADOS EN LA POBLACION TOTAL

GRAFICA No.7



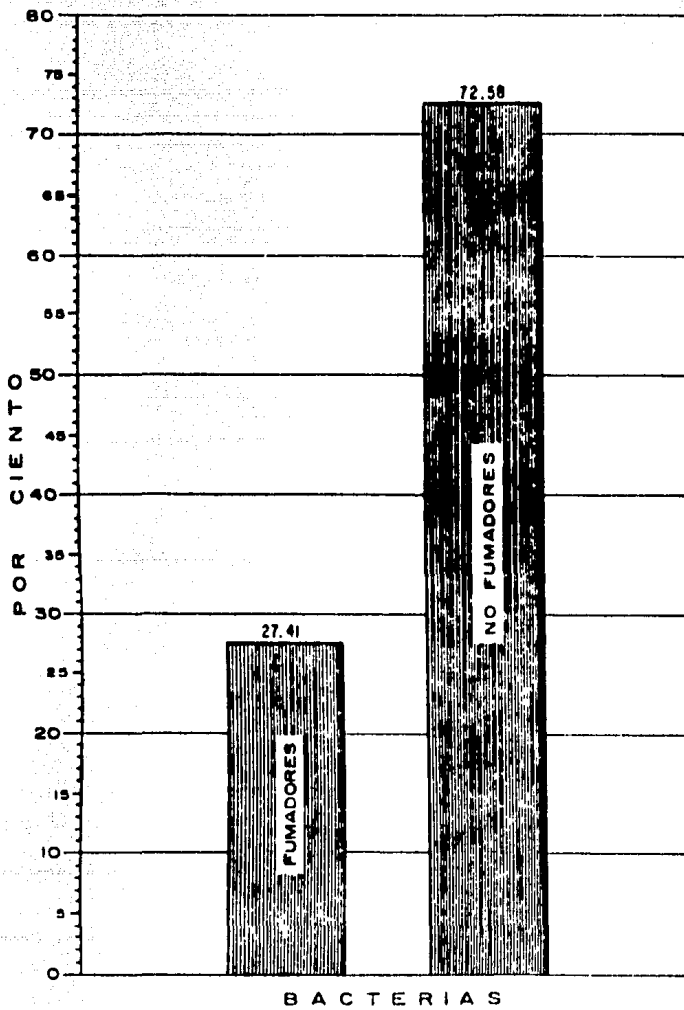
PORCENTAJE DE Staphylococcus aureus PRODUCTORES DE PIGMENTO  
AMARILLO AISLADOS EN LA POBLACION TOTAL

GRAFICA No. 8



PORCENTAJE DE Staphylococcus aureus EN FUMADORES  
Y NO FUMADORES

GRAFICA No. 9



son fumadores lo que representa el 27.41 % mientras que 45 no son fumadores y equivale al 72.58 % de los portadores de Staphylococcus aureus (gráfica 9).

8. La lectura de los halos de inhibición en la -- prueba de sensibilidad a antibióticos practicada a los Staphylococcus aureus aislados dieron los siguientes resultados:

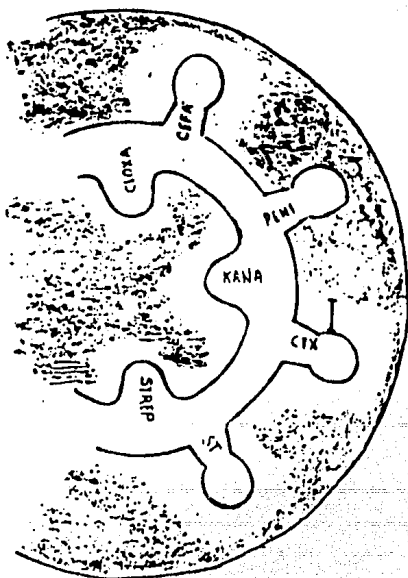
Antibióticos probados	Media aritmética del halo de inhibición (mm) *
Cefotaxima	15.60
Ampicilina	00.00
Cefalosporina	19.70
Eritromicina	18.82
Gentamicina	19.32
Lincomicina	16.02
Kanamicina	15.80
Penicilina	00.00
Estreptomina	13.24
Sulfametoxazol Trimetropin	16.12

\* La media aritmética del halo de inhibición se -- obtuvo de la siguiente manera (tomando como ejemplo la cefotaxima):

a). Agrupar los datos obtenidos a partir de las -- lecturas de los halos de inhibición (para cefotaxima en este caso), dados por los Staphylococcus aureus estudiados.

Se obtuvieron 62 lecturas para cada antibiótico, en el caso de la cefotaxima los halos de inhibición variaron de 0.00 mm a 15.00 mm (se obtienen 62 lecturas ya que se sometieron a esta prueba los 62 Staphylococcus aureus aislados).

El halo de inhibición se mide desde el borde del disco y el punto final de todos los sistemas de lectura será una completa inhibición del crecimiento determinada visualmente.



I halo de inhibición

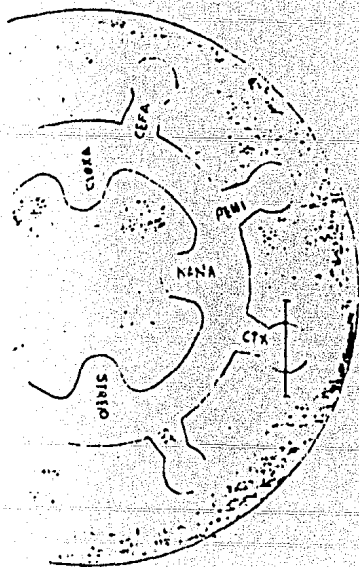
No. de muestras	Halo de inhibición (mm)
1/62	0
1/62	1
2/62	2
10/62	3
19/62	4
14/62	5
2/62	6
2/62	7
5/62	8
1/62	9
4/62	10
0/62	11
0/62	12
0/62	13
0/62	14
1/62	15
<u>62 muestras</u>	

b). Establecer una tabla de frecuencia y calcular la media aritmética.

Clase	Limites inf-sup	F	f	$\bar{F}$	$\bar{f}$	Xi	FXi	
1	0 - 2	4	0.06	4	0.06	1.0	4.0	
2	3 - 5	43	0.69	47	0.75	4.0	172.0	
3	6 - 8	9	0.14	56	0.89	6.5	58.5	
4	9 - 11	5	0.08	61	0.97	10.0	50.0	
5	12 - 15	1	0.01	62	0.98	13.5	13.5	
							$\Sigma =$	<u>298.0</u>

$$\bar{X} = (\text{media aritmética}) = \frac{\sum Fx_i}{\text{No. total de datos}} = \frac{298}{62} = 4.8$$

c). Los microorganismos sometidos a la prueba de sensibilidad a antibióticos, según el método de Bauer-Kirby, se consideran resistentes, intermedios o susceptibles dependiendo del halo de inhibición, incluyendo los 6 mm del disco. (26).



Entonces:

$$\bar{X} \times 2 + 6 = \text{Media aritmética del halo de inhibición.}$$

Para el ejemplo:

$$4.8 \times 2 + 6 = \underline{15.6 \text{ mm}}$$



Se siguió el mismo procedimiento para determinar la media aritmética de todos los antibióticos.

De acuerdo a esto los *Staphylococcus aureus* resultaron resistentes a penicilina y ampicilina y el resto de los antibióticos probados presentaron las siguientes lecturas:

Cefotaxima _____	intermedio
Cefalosporina _____	susceptible
Eritromicina _____	susceptible
Gentamicina _____	susceptible
Lincomicina _____	intermedio
Kanamicina _____	intermedio
Estreptomina _____	intermedio
Sulfametoxazol trimetropin _____	susceptible

Estos resultados se obtienen comparando la media aritmética del halo, de inhibición de cada antibiótico probado, con la siguiente tabla:

	Resistente (mm)	Intermedio (mm)	Susceptible (mm)
Cefotaxima _____	14	15 - 22	23
Ampicilina _____	20	21 - 28	29
Cefalosporina _____	14	15 - 17	18
Eritromicina _____	13	14 - 17	18
Gentamicina _____	12	13 - 14	15
Lincomicina _____	14	15 - 16	17

Kanamicina _____	13	14 - 17	18
Penicilina _____	20	21 - 28	29
Estreptomocina _____	11	12 - 14	15
Sulfametoxazol trimetropin	10	11 - 15	16

9. De las 300 muestras trabajadas únicamente 5 de ellas (1.66 %) presentaron crecimiento de levaduras en agar Biggy y se reportarón como crecimiento escaso.

## V. D I S C U S I O N

1. De los microorganismos aislados a partir de las muestras de exudado faríngeo el Staphylococcus aureus ocupa el cuarto lugar con un porcentaje de 9.4 %. Boyd (1980), reporta que de un 20 a un 30% de la población, es portadora de Staphylococcus aureus (3).

Por lo tanto el porcentaje obtenido en el presente estudio, está por debajo de lo esperado.

Si se hace una comparación de los porcentajes obtenidos en los tres grupos en que se dividió la población estudiada, encontramos un mayor porcentaje en la población estudiantil (12.8%), seguida del personal docente (8.2%) y por último el personal administrativo (1.8%).

2. Como se reportó en los resultados las muestras se trabajaron en un período que comprende de Octubre de 1985 a Marzo de 1986. En la gráfica 6, podemos observar que en los meses de Noviembre, Diciembre y Enero, se registró el mayor porcentaje de aislamiento de Staphylococcus aureus (33.82%, 20.00% y 20.00% respectivamente); lo cual coincide con las bajas temperaturas en estos meses.

3. Se encontraron 62 portadores de Staphylococcus aureus; haciendo un estudio de la historia clínica de estos portadores, se encontró que 23 de ellos (37.09%) padecen con frecuencia de afecciones amigdalofaríngeas sometiendo a tra

tamiento con antibióticos, mientras que 39 (62.90%) refirieron no padecer este tipo de afecciones.

Si hacemos una diferenciación entre portador sano, que es aquel que no ha padecido la enfermedad y portador --convaleciente, que es aquel que sigue albergando el germen tras la curación clínica de su enfermedad; entonces únicamente podemos considerar como portadores sanos a los 39 donadores que no presentan afecciones amigdalofaríngeas frecuentes.

4. Las colonias de Staphylococcus se desarrollaron en agar sales y manitol, después de una incubación a 37°C - durante un tiempo promedio de 36 horas. Por lo tanto se deberá considerar que en el aislamiento de Staphylococcus en agar sales y manitol, las placas que no presentan crecimiento a las 24 horas de incubación, no deberán ser eliminadas, ya que su crecimiento se hace significativo después de 36 - horas de incubación.

5. Las cepas de Staphylococcus aureus dieron lectura positiva, para la prueba de fermentación anaeróbica de - manitol, después de la incubación a 37°C durante un tiempo promedio de 18 días. Mac Fadin (27), reporta que esta prueba puede ser considerada negativa después de 30 días de incubación.

Se consideró necesario realizar la prueba de fermentación anaeróbica de manitol a pesar de que la fermentación

del mismo azúcar podía leerse en las placas de agar sales y manitol; el Staphylococcus aureus crece perfectamente en condiciones anaeróbicas, ya que es un microorganismo facultativo mientras que otros Staphylococcus coagulasa negativa como -- Staphylococcus epidermidis y Staphylococcus saprophyticus no se desarrollan bien en anaerobiosis, de tal manera que la -- prueba de fermentación anaeróbica de manitol funcionó como - prueba auxiliar para la identificación de Staphylococcus aureus.

6. La prueba de coagulasa positiva se registró en -- tiempos que variaron de 30 minutos hasta 8 horas.

Para la realización de esta prueba se usó plasma humano proveniente de sangre caduca para transfusiones. El --- plasma siempre se probó con una cepa de Staphylococcus coagulasa positiva para poder ser usado y evitar pruebas con lecturas falsas. La coagulasa fue considerada como un criterio Diagnóstico final para la identificación de Staphylococcus aureus.

7. De los 62 Staphylococcus aureus aislados 45 presentaron  $\beta$  hemólisis, lo que equivale al 72.58%.

8. Únicamente 49 Staphylococcus aureus de los 62 aislados produjeron pigmento amarillo dorado, después de prolongar la incubación hasta 48 horas, lo que representa el 72.02%. En el pie de portada de la revista Infectología (Órgano de la Asociación Mexicana de infectología A.C.), Marzo de 1982

se reporta que la cromogenicidad que ostentan las colonias - de Staphylococcus aureus, guarda una mínima relación con la patogenicidad del microorganismo.

9. Las pruebas bioquímicas realizadas para la identificación de los Staphylococcus únicamente permitieron la --- identificación de la especie aureus.

En 1982 Eng, Wang y colaboradores (11), reportan -- que los Staphylococcus coagulasa negativa por lo general no son completamente identificados y sales llama Staphylococcus epidermidis, lo cual es incorrecto ya que dentro de los Staphylococcus coagulasa negativa se encuentran otras especies como: Staphylococcus haemolyticus, Staphylococcus hominis, - Staphylococcus warneri, Staphylococcus simulans, Staphylococcus xylosus, Staphylococcus saprophyticus, etc.

Algunos de estos Staphylococcus coagulasa negativa, por ejemplo: Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus hominis, Staphylococcus warneri y Staphylococcus simulans, presentan patogenicidad significativa (34).

En el presente trabajo no se realizaron pruebas para llegar a la identificación de las diferentes especies de Staphylococcus coagulasa negativa, ya que el objetivo principal del trabajo es el aislamiento e identificación de Staphylococcus aureus.

10. Para la determinación de susceptibilidad a antibióticos la prueba más recomendada es la prueba de dilución

seriada, en este caso se utilizó el método de sensidiscos -- (método de Bauer-Kirby), debido a las limitaciones de material: antibióticos puros, replicador de Steer, material de cristalería (tubos de ensayo, pipetas, etc.).

Debido a que no se hacen de rutina las pruebas de dilución seriada, una alternativa, de los laboratorios clínicos, es recurrir al uso de los multidiscos para obtener la información necesaria que sirva como guía del tratamiento.

En este trabajo la determinación de la sensibilidad a antibióticos se planteó como un objetivo secundario, útil para aquellos portadores que refirieron padecer afecciones -- amigdalofaríngeas frecuentes y que deben ser sometidos a tratamientos con antibióticos.

Los Staphylococcus aureus aislados resultaron ser susceptibles a cefalosporina, eritromicina, gentamicina y sulfametoaxol trimetropin. Calderón Jaimes (1985), reporta que el 98% de los Staphylococcus aureus son sensibles a las cefalosporinas, lo cual concuerda con los resultados obtenidos - (6).

## VI. CONCLUSIONES

1. Los cuatro microorganismos más comunes aislados en la población estudiada son:

Streptococcus  $\alpha$  hemolítico

Neisseria spp.

Streptococcus  $\gamma$  hemolítico

Staphylococcus aureus

2. De los tres grupos en que se dividió la población el que presentó mayor número de Staphylococcus aureus - fué la población estudiantil.

3. No se encontró una relación estrecha entre fumadores y portadores de Staphylococcus aureus, ya que del total de portadores de Staphylococcus aureus (62), sólo 17 de ellos son fumadores.

4. De los 62 portadores de Staphylococcus aureus solamente 39 de ellos son realmente portadores sanos, el resto se consideraron portadores convalecientes.

5. El mayor porcentaje de Staphylococcus aureus fue aislado a partir de las muestras que se trabajaron durante los meses de Noviembre, Diciembre y Enero, coincidiendo ésto con las temperaturas más bajas registradas en esta época.

6. Los Staphylococcus aureus aislados presentaron -



mayor sensibilidad a cefalosporina, eritromicina, gentamicina y sulfametoxazol-trimetropin.

## VII. BIBLIOGRAFIA

1. Bjork, I.; Petersson, B.; Sjoquist, J. (1972). Some physicochemical properties of protein A from Staphylococcus aureus. Eur. J. Biochem. 29, p. 579-584.
2. Block, C. S.; Carmichael, M. (1978). Community versus hospital Staphylococcus aureus. Antimicrobial susceptibilities and some features of nasal carriage and acquisition S.A. Medical Journal Vol. 54, p. 225-229.
3. Boyd, R. F.; Marr, J. J. Medical Microbiology. Ed. Little, Brown. 5a. ed. U. S. A. 1980.
4. Bradshaw. Microbiología de Laboratorio. Ed. El Manual - Moderno. Méx. 1976.
5. Calderón, J. E. Aplicación Clínica de Antibióticos. Editor Francisco Méndez Cervantes. 5a. ed. Méx. 1984.
6. Calderón J. E. (1985). Participación Clínica del Staphylococcus. Atención Médica. Vol. XV, No. 8, p. 31.
7. Conde, G. C. (1985). Flora normal de las vías respiratorias. Atención Médica. Vol. XV, No. 8, p. 12.
8. Cowan, S. T.; Steel, K. J. Manual para la Identificación de Bacterias de Importancia Médica. C. E. C. S. A. 2a. ed. Méx. 1979.
9. Davidsohn, I.; Henry, J. B. Todd-Sanford, Diagnóstico - Clínico por el Laboratorio. Salvat Editores, S. A. 6a. ed. Barcelona 1978.
10. Davis, B.; Dulbecco, R.; Eisen, H.; Ginsberg, H.; Wood,

- B.; MC. Carty, M. Tratado de Microbiología. Salvat Editores, S.A. 2a. ed. Barcelona 1979.
11. Eng, R.H.K.; Wang, C.; Person, A.; Kiehn, T. E.; Armstrong, D. (1982). Species identification of coagulase negative Staphylococcal isolates from blood cultures. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 15, No. 3, p. - 439-442.
  12. Facklam, R. R.; Rhoden, D. L.; Smith P. B. (1984). -- Evaluation of the rapid step system for the identification of clinical isolates of Streptococcus species. -- Journal of Clinical Microbiology. Vol. 20, No. 5, p. - 894-898.
  13. Facklam, R. R.; Manual de Procedimientos. Aislamiento e Identificación de Streptococcus.
  14. Goldstein, J.; Roberts, J. W. (1982), Microtube coagulase test for detection of coagulase-positive Staphylococci. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 15, No. 5, p. 848-851.
  15. Gordon, B. L. Lo Esencial de la Inmunología. Ed. El Manual Moderno, S.A. 2a. ed. Méx. 1975.
  16. Gunn, B. A.; Singleton, L.; Peck, E. P.; Colwell, R. R.; Keiser, J. K.; Kopfer, C. O. (1981). Comparison of methods for identifying Staphylococcus and Micrococcus s. p. p. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 14, -- No. 2, p. 195-200.
  17. Hamilton-Miller, J.M.T.; Iliffe A. (1985). Antimicrobial resistance in coagulase-negative Staphylococci. J.

- Med. Microbiol., Vol. 19, p. 217-226.
18. Harper, H.A. Manual de Química Fisiológica. Ed. El Manual Moderno, S.A. 5a. ed. Méx. 1976.
  19. Heczko, P.B.; Hoffler, V.; Kasprowicz, A.; Pulverer, G. (1981). Quantitative studies of the flora of the nasal vestibule in relation to nasal carriage of Staphylococcus aureus. J. Med. Microbiol., Vol. 14, p. 233 - 241.
  20. Huijsmons, A. G. (1978). Results of routine test for the detection of dispersers of Staphylococcus aureus. Archivum Chirurgicum Neerlandicum. 30-3, p. 141-150.
  21. Jawetz, E.; Melnick, J.; Adalberg, E. Microbiología Médica. Ed. El Manual Moderno, S.A. 10a. ed. Méx. 1983.
  22. Jones, M. E.; Helling, D. K. (1978). The Journal Family Practice. Vol. 6, No. 5, p. 963-968.
  23. Kreyszig, E. Introducción a la Estadística Matemática. Ed. Limusa. Méx. 1976.
  24. Kronvall, G. Purification of Staphylococcal protein A using inmuno sorbents. (1979). Scand. J. Immunol 2, p. 31-36.
  25. Kumate, J.; Gutierrez, G. Manual de Infectología. Editor Francisco Méndez Cervantes. 9a. ed. Méx. 1983.
  26. Lennette, E.H.; Balows, A.; Hausler, W. J.; Truant, J. P. Manual de Microbiología Clínica. Ed. Médica Panamericana. 3a. ed. Méx. 1982.
  27. Mac. Faddin; Jean F. Biochemical test for Identifica--

- tion of Medical Bacteria. Waverly Press, Inc. Baltimore U. S. A. 1976.
28. Manual de Medios de Cultivo y Pruebas Bioquímicas. -- BIOXON.
  29. Menzies, R. E. (1977). Comparison of coagulase, deoxyribonuclease (DNase), and heat-stable nuclease test - for identification of Staphylococcus aureus. J. Clin. Path 30, p. 606-608.
  30. Myers, J. P.; Linnemann, C. C. (1982). Bacteremia due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus. The Journal of Infectious Diseases, Vol. 14, No. 4, p. -- 532-535.
  31. Myrvik, O. N.; Pearsall, N. N.; Weiser, R. S. Bacteriología y Micología Médicas. Ed. Interamericana. Méx. - 1979.
  32. Neugebauer. Atlas de enfermedades infecciosas. Ediciones ROCHE. Basilea 1983.
  33. Paredes, L.; Valenzuela, E.; del Canto, E.; Oddo, D. (1982). Estudio Bacteriológico de 160 cepas de Staphylococcus coagulasa negativa de origen humano. Rev. -- Lat. amer. Microbiol. 24. p. 1-6.
  34. Parisi, J. T. (1985). Coagulase-negative Staphylococci and the epidemiological typing of Staphylococcus epidermidis. Microbiological Reviews, p. 126-139.
  35. Pérez, M. A.; Lifshitz, G. A. (1975). Implicaciones - clínicas de los mecanismos de acción de los antimicro

- bianos. Prensa Médica Mexicana. Año XL. No. 3, p. 66-75.
36. Piano del, M. (1978). The problem of the identification and clasification of Staphylococci. Estrato dal boll. Ist. Sierater Milanese 57, 2, p. 213-227.
37. Ramírez, R. C. H.; Fuxench, L. Z.; Nevárez. (1980). -- Increased pharyngeal bacterial colonization during viral illness. Arch. Intern. Med. Vol. 141, p. 1599-1603.
38. Rodríguez, N. E.; Becerra, L. J. S.; Andrade, P. J. S. Macias, H. O.; Rodríguez, CH. J.J.; Esparza, A.S. -- (1982). Colonización del recién nacido por Staphylococcus aureus. Investigación Médica Internacional, 9, - 392, p. 392-395.
39. Rodríguez, R.S. (1985). Infecciones de las vías respiratorias altas. Atención Médica. Vol. XV, No. 8, p. - 100-103.
40. Sjoquist, J.; Meloun, B.; Hjelm, H. (1972). Protein A isolated from Staphylococcus aureus after digestion with lysostaphin. Eur. J. Biochem. 29, p. 572-578.
41. Wegrzynowicz, Z.; Heczko, P. B.; Jeljaszewicz, J.; -- Neugebauer, M.; Pulverer, G. (1979), Pseudocoagulase activity of Staphylococci. Journal of Clinical Microbiology Vol. 9, No. 1, p. 15-19.
42. Wilson, G. S.; Miles, A. Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity. Edwar Arnold (Publishers). 6a. ed. London 1975.

43. Zarzour, J. Y.; Belle, E. A. (1978). Evaluation of three test procedures for identification of Staphylococcus aureus from clinical sources. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 7, No. 2, p. 133-136.
44. Zierdt, Ch. H. (1982). Long-term Staphylococcus aureus carrier state in hospital patients. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 16, No. 3, p. 517-520.